UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA INTEGRADA

MICHELE BAIL

REEMBASADORES RESILIENTES PARA BASE DE PRÓTESE: RUGOSIDADE SUPERFICIAL E ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA EM MODELO ANIMAL

PONTA GROSSA
2012

MICHELE BAIL

REEMBASADORES RESILIENTES PARA BASE DE PRÓTESE: RUGOSIDADE SUPERFICIAL E ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA EM MODELO ANIMAL

Tese de Doutorado apresentada como requisito à obtenção do título de Doutor na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Curso de Doutorado em Odontologia- Área de concentração em Clínica Integrada.

Orientadora: Prof[a]. Dr[a]. Nara Hellen Campanha Bombarda
Co-orientador: Prof Dr Eduardo Bauml Campagnoli

PONTA GROSSA
2012

Ficha catalográfica elaborada pelo Setor Tratamento da Informação BICEN/UEPG

Bail, Michele
B153 Reembasadores resilientes para base de prótese: rugosidade superficial e análise histopatológica em modelo animal / Michele Bail. Ponta Grossa, 2012.
111 f.

Tese (Doutorado em Odontologia – área de concentração : Clínica Integrada), Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientador : Profa. Dra. Nara Hellen Campanha Bombarda.
Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Baulm Campagnoli.

1. Prótese total. 2. Palato. 3. Ratos Wistar. I. Bombarda, Nara Hellen Campanha. II. Campagnoli, Eduardo Baulm. III. T.
CDD : 617.6

TERMO DE APROVAÇÃO

MICHELE BAIL

REEMBASADORES RESILIENTES PARA BASE DE PRÓTESE: RUGOSIDADE SUPERFICIAL E ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA EM MODELO ANIMAL

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do Título de Doutora em Odontologia pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração Clínica Integrada, da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Ponta Grossa, 13 de dezembro de 2012.

Profa. Dra Nara Hellen Campanha Bombarda
Doutora em Reabilitação Oral
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profa. Dra Ana Paula Gebert de Oliveira Franco
Doutora em Odontologia
Universidade Tuiuti do Paraná

Profa. Dra Janaina Habib Jorge
Doutora em Reabilitação Oral
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof. Dr Marcelo Carlos Bortoluzzi
Doutor em Odontologia
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profa. Dra Vanessa Migliorini Urban
Doutora em Reabilitação Oral
Universidade Estadual de Ponta Grossa

AGRADECIMENTOS

Considerando este trabalho como resultado de uma caminhada que não começou somente neste curso de doutorado, agradecer pode não ser tarefa fácil ou justa. Para não correr o risco da injustiça, agradeço de antemão a todos que de alguma forma passaram pela minha vida antes de chegar ao presente momento. Agradeço primeiramente a Deus e Sua sabedoria divina pela qual todas as coisas são feitas.

Agradeço aos meus pais, Sidney Domingos Bail e Amélia de Bortoli, meu irmão Leandro Bail, pelo incentivo e apoio incondicional na busca de crescimento pessoal e profissional. Agradeço por serem meu exemplo de honestidade, força, simplicidade e responsabilidade, valores importantes que levo por toda a vida.

Agradeço a Universidade Estadual de Ponta Grossa, a Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação, e a Pós Graduação em Odontologia.

E agradeço, particularmente, pela contribuição direta na construção deste trabalho:

À Coordenadora da Pós Graduação em Odontologia, Professora Doutora Osnara Maria Mongruel Gomes, por toda colaboração, disposição e apoio durante o curso do doutorado.

À Professora Doutora Janaina Habib Jorge, que foi a orientadora neste trabalho inicialmente, pela oportunidade deste trabalho, pela importante contribuição acadêmica neste trabalho e também todo apoio e conhecimento compartilhado. E à Professora Doutora Nara Hellen Campanha, pelo conhecimento compartilhado, e por ter me acolhido para orientar a tese em toda a finalização do trabalho.

Aos Professores Doutores Eduardo Campagnoli e Fábio André dos Santos pela colaboração que nos proporcionaram desde o início deste trabalho, e principalmente com o trabalho de experimentação animal.

Aos colegas Doutorandos Lissandra Matos Brol, Lidia Yileng Tay, Daniel Herrera pela dedicação e conhecimentos compartilhados, e às Graduandas de iniciação científica Cláudia Viviane Pelissari e Manuella Iglesias Ban, pela contribuição desempenhada neste trabalho.

Ao Professor Mestre Edson do Rocio Meister, aos Professores Doutores Vanessa Migliorini Urban e Alfonso Sanchez-Aiala pelo interesse e colaboração ao trabalho.

Às funcionárias do Biotério Maria e Marilene, por toda atenção, competência, colaboração, disposição e amizade. Considero a colaboração de vocês primordial para a execução deste trabalho.

Aos Professores Doutores João Carlos Gomes e Osnara Maria Mongruel Gomes, por todo empenho e dedicação ao curso de Pós Graduação. Também agradeço aos Professores Doutores da Universidade Estadual de Ponta Grossa: Elisabete Brasil dos Santos, Alessandro Loguercio, Alessandra Reis, Daniel Fernandes, Vitoldo Antônio Kozlowski Junior, e Benjamim de Melo Carvalho, Paulo Vitor Farago, pela contribuição durante o doutorado.

À Fundação Araucária e a CAPES, pelos auxílios financeiros concedidos para este estudo.

Às Professoras Doutoras Sforza e Donetti e os Doutorandos Alice Gualerzi e Andrèa Mapelli, juntamente ao laboratório de Histologia e Morfologia da Universidade de Milão, pela disposição em me receber como doutoranda estrangeira e por compartilharem conhecimentos que contribuíram neste trabalho. E à Fundazione Cariplo pela oportunidade e auxílio.

Aos Professores Doutores José Rosa Gomes e Ewerton Garcia de Oliveira Mima pela colaboração nas considerações pertinentes na banca do exame de qualificação.

À secretária do curso de Pós Graduação Morgana, e à funcionária Laura Andrade, pela simpatia e dinamismo em nos atender durante a execução deste trabalho.

À funcionária do laboratório de Histologia Mari pela simpatia, disposição e conhecimentos compartilhados, e às estagiárias de histologia Andréia, Juliane e Renata.

E agradecimentos a todas as pessoas e colega do doutorado que de certa forma contribuíram diretamente ou indiretamente para a minha dedicação a este trabalho.

“Todo o futuro da nossa espécie, todo o governo das sociedades, toda a prosperidade moral e material das nações dependem da ciência, como a vida do homem depende do ar. Ora, a ciência é toda observação, toda exatidão, toda verificação experimental. Perceber os fenômenos, discernir as relações, comparar as analogias e as dessemelhanças, classificar as realidades, e induzir as leis, eis a ciência.”

Fonte: Obras completas de Rui Barbosa.

RESUMO

Bail M. Reembasadores resilientes para base de prótese: rugosidade superficial e análise histopatológica em modelo animal. [Tese] Doutorado em Clínica Integrada. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2012.

O objetivo do presente estudo foi avaliar in vivo o efeito de tratamento térmico pós polimerização em reembasadores resilientes para base de prótese sobre sua biocompatibilidade; além de investigar as alterações em sua rugosidade superficial após 14 dias de utilização em animais. Cinquenta ratos adultos (Wistar, fêmeas), com idade de sessenta dias e massa corporal de 150 g - 250 g foram divididos em cinco grupos de acordo com os materiais testados, dos quais um grupo recebeu placas palatinas confeccionadas em resina acrílica termopolimerizável Lucitone 550 (G2); cinco grupos receberam placas palatinas de Lucitone 550 reembasados com um dos seguintes materiais: Dentusoft (G3), Dentuflex (G4), Trusoft (G5) e Ufigel P (G6); e um grupo foi mantido sem utilização de placas sob as mesmas condições (grupo controle – G1). Para os grupos G2, G3, G4 e G5 foram utilizados 10 animais sendo que metade (n=5) utilizou placas com tratamento térmico pós-polimerização e a outra metade recebeu placas sem tratamento. Após 14 dias os animais foram mortos e os palatos foram fixados em formalina tamponada a 10%. Cortes transversais de 5 µm corados com hematoxilina e eosina (HE) foram analisados com planimetria computadorizada, com o objetivo de mensurar quantitativamente a espessura de queratina (KC), espessura total do epitélio (ET), e comprimentos da interface da camada basal (BL). Mensuração da rugosidade superficial (Ra) das placas foi realizada nos materiais em amostras imediatas ao reembasamento (RaI) e após os 14 dias da utilização (RaF) para os grupos G3, G4, G5 e G6. Os testes Shapiro Wilks e Levene foram aplicados aos dados da planimetria computadorizada a fim de se analisar a normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, respectivamente. ANOVA e teste de Tukey foram utilizados para os dados de histomorfometria. O peso dos animais inicial e após 14 dias foram comparados utilizando teste de Wilcoxon. Foi realizado o cálculo do poder da amostra para os dados de rugosidade superficial, os quais foram submetidos ao ANOVA e teste de Tukey. Todas as inferências estatísticas para a análise quantitativa histológica e rugosidade superficial foram realizadas assumindo um nível de significância de 5%. Para NT, os parâmetros histológicos estudados não foram estatisticamente diferentes entre os grupos G2, G3, G4 e G5, nem quando cada um deles foi comparado ao grupo G1 ($p \geq 0,05$). Para HT, G4 demonstrou na interface da membrana basal cristas menos alongadas quando comparadas ao G2 ($p = 0,037$). Quando comparados NT e HT, G2 demonstrou uma diminuição significante de KC ($p = 0,037$) e de ET ($p = 0,003$). As médias IRa (2,92 ± 0,87 µm) e FRa (3,35 ± 0,65 µm) foram estatisticamente diferentes ($p = 0,016$). Ufi Gel P demonstrou uma menor ($p = 0,01$) media Ra (2,1 ± 0,52 µm) que Dentuflex (3.94 ± 0.81 µm), Trusoft (4,12 ± 0,64 µm) e Dentusoft (3,27 ± 0,64 µm). Trusoft foi mais rugoso que Dentusoft ($P > 0,05$). O tratamento térmico pós-polimerização foi efetivo em reduzir as alterações histomorfológicas na mucosa palatina de ratos quando o material acrílico para base de próteses Lucitone 550 foi utilizado. Os materiais resilientes testados não causaram alterações significativas na mucosa palatina de ratos Wistar no período testado, segundo a análise histomorfológica quantitativa. Dentuflex, Trusoft e Dentusoft demonstraram maiores alterações na rugosidade superficial após 14 dias quando comparados ao Ufi Gel P. O período de 14 dias in vivo resultou em alterações na rugosidade superficial dos materiais testados.

Palavras-Chave: Prótese total; Palato; Ratos Wistar.

ABSTRACT

Bail M. Resilient denture base liner: surface roughness and histopathological analysis in a rat model. [Tese] Doutorado em Clínica Integrada. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2012.

The aim of this study was to evaluate *in vivo* the effect of a post-polymerization heat treatment in the biocompatibility of resilient denture base liners, and to investigate the changes on their surface roughness after 14 days of use in animals. Fifty adult rats (Wistar, females), aged sixty days, and body mass of 150g - 200g were divided in five groups according to the materials tested: one group used an acrylic plate made with Lucitone 550 (G2), and five groups tested received one of the following lining materials on the Lucitone 550 plates: Dentusoft (G3), Dentuflex (G4) or Trusoft (G5) and Ufigel P (G6); and one control group (G1) was kept without plates in the same conditions. For the groups G2, G3, G4 and G5 were used 10 rats, when half of the animals from each group (n=5) used plates with no post-polymerization (NT), and the other half received a heat water-bath post-polymerization (HT) before insertion. After 14 days the animals were killed and the palates were fixed in 10% buffered formalin. Sections of 5 µm, stained with hematoxylin and eosin, were analyzed by computerized planimetry to quantitatively assess the keratin layer thickness (KC), the total epithelium thickness (ET) and the basal layer interface lenght (BL). Surface roughness (Ra) of the relined dentures materials tested was recorded immediately after reline (IRa groups) or 14 days after fixing the palatal plates on animals (FRa groups), for the groups G3, G4, G5 and G6. Normality of residuals and homogeneity of the variances were examined by Shapiro-Wilk and Levene's tests, respectively. ANOVA and Tukey's test were used to the morpho-histometric data. Animal weight initially and after 14 days were compared using Wilcoxon signed rank sum test. Post hoc power analysis was performed for the Ra data (µm) and analyzed by 2-way ANOVA and Tukey's test. All the statistical inferences for the histological quantitative analyses and surface roughness were performed assuming a 5% significance level. For NT, there were no statistical differences for the tissue parameters among the groups G2, G3, G4 and G5, nor either when comparing each one with G1 ($p \geq 0.05$). For HT, G4 showed less elongated ridges at the basal membrane interface ($p = 0.037$) than G2. When comparing NT and HT, G2 showed a significant decrease in the KC and ET ($p < 0.05$). IRa means (2.92 ± 0.87 µm) and FRa means (3.35 ± 0.65 µm) were significantly different ($P = 0.016$). Ufi Gel showed a lower ($p = 0.01$) Ra mean (2.1 ± 0.52 µm) than Dentuflex (3.94 ± 0.81 µm), Trusoft (4.12 ± 0.64 µm) and Dentusoft (3.27 ± 0.64 µm). Trusoft was rougher than Dentusoft ($p > 0.05$). The post-polymerization heat treatment for Lucitone 550 was an effective method to reduce the morpho-histometric changes in the rat palatal mucosa. By means of quantitative data, in this study the resilient chairside lining materials tested did not cause significant histopathologic changes in the rat palatal mucosa for the tested period. Dentuflex, Trusoft and Dentusoft showed greater changes in their surface roughness after 14 days when compared to Ufi Gel P. The period of 14 days *in vivo* resulted in changes in the surface roughness of the materials tested.

Keywords: Denture, Complete; Palate; Rats, Wistar

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADRO 1	Materiais e respectivas composições	20
FIGURA 1	Grupos experimentais do estudo	22
FIGURA 2:	Moldagem funcional com silicone de adição	22
FIGURA 3:	Modelo em gesso tipo IV	23
FIGURA 4:	Enceramento das placas palatinas	23
FIGURA 5:	Inclusão das placas enceradas em mufla	23
FIGURA 6:	Placas palatinas confeccionadas em resina acrílica termopolimerizável	23
FIGURA 7	Procedimento de reembasamento das placas (manutenção na boca do animal) segundo as recomendações de cada material	24
FIGURA 8:	Palato dissecado	25
FIGURA 9:	Rugosímetro Surftest SJ- 401	26
FIGURA 10:	Esquema das oito leituras	26
FIGURA 11:	Amostra posicionada para leitura	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HE	Hematoxilina e eosina
BL	Comprimento da interface da Membrana Basal
CC	Espessura de Compartimento Celular
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
TE	Espessura Total do Epitélio
G	Grama
HT	Com tratamento térmico pós polimerização
ISO	Internacional Organization for Standardization
KC	Espessura de Camada de Queratina
µ	Micro
m	Metro
Ra	Valor médio da rugosidade superficial
RaI	Rugosidade Imediata
RaF	Rugosidade Após 14 Dias da Utilização das Placas Oclusais
NT	Sem tratamento térmico pós polimerização
LC	Lucitone 550
DF	Dentuflex
DS	Dentusoft
TS	Trusoft
UG	Ufi Gel P
COBEA	Colégio Brasileiro de Animal Experimentação
SBCAL	Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório

LISTA DE SÍMBOLOS

λc	Comprimento da Onda Limite para mensuração da rugosidade
mg	Miligramas
g	Gramas
ml	Mililitros
h	Horas
ºC	Graus Celsius
X	Vezes
≥	Maior ou igual a
≤	Menor ou igual a
±	Mais ou menos
α	Alfa
=	Igual

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **14**

2 PROPOSIÇÃO **18**

2.1 OBJETIVO GERAL **18**

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS **18**

3 MATERIAL E MÉTODO **19**

3.1 MATERIAIS **19**

3.2 ANIMAIS **21**

3.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS **21**

3.4 CONFECÇÃO DAS PLACAS PALATINAS **22**

3.5 FIXAÇÃO DAS PLACAS PALATINAS E REEMBASAMENTO **24**

3.6 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA **25**

3.7 MENSURAÇÃO DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL **26**

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA **27**

3.9 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA **27**

4 CAPÍTULOS **28**

4.1 CAPÍTULO 1 - –Propiedades de materiales resilientes para rebase de Prótesis‖ **29**

4.2 CAPÍTULO 2 - –Surface roughness of acrylic and silicone-based soft liners: in vivo study in a rat model‖ **45**

4.3 CAPÍTULO 3 - –Morpho-histometric changes by the use of resilient relining materials – a rat model study‖ **63**

5 DISCUSSÃO **93**

6 CONCLUSÕES **99**

REFERÊNCIAS **100**

ANEXO A - Parecer consubstanciado da Comissão de Ética em Pesquisa Animal **110**

1 INTRODUÇÃO

As resinas acrílicas têm sido o material de escolha para a confecção de bases de próteses removíveis parciais ou totais desde a década de 30[1], em virtude de suas características de cor e translucidez, que permitem a imitação da aparência natural da gengiva, sendo esta a principal vantagem sobre os materiais antecessores, como vulcanite[2-3], nitrocelulose, plásticos de vinil ou fenol formaldeído[4]. As resinas acrílicas convencionais são materiais de baixa resistência ao impacto, porém apresentam adequada resistência à tração e à compressão para aplicações em próteses totais ou parciais[4-5]desde que corretamente manipuladas e processadas. Uma das importantes vantagens da resina à base de poli (metacrilato) como base para prótese é a relativa facilidade com que pode ser processada. Estes materiais, na sua maioria, são compostos pela mistura de um polímero contendo peróxido de benzoíla e um monômero, geralmente o metacrilato de metila. A reação de polimerização do material ocorre pela decomposição rápida do peróxido após ter sido ativado, o que libera uma quantidade significativa de radicais livres, polimerizando o monômero e toda a mistura polimérica[1,6-8]. O peróxido de benzoíla pode ser ativado por substâncias químicas, geralmente incorporadas ao monômero, pela luz ou pelo calor, por meio de micro-ondas, banho de água aquecida ou calor seco em estufa. Entretanto, a conversão de monômero em polímero não é completa, e o monômero que não sofreu reação é denominado monômero residual[9-11]. O monômero residual, em contato com a mucosa, pode atuar como irritante ou causador de reações alérgicas. Os sinais e sintomas clínicos mais frequentes são dor, tumefação[12] eritema, erosão na mucosa bucal, queimação na mucosa e na língua[13-15].

A rigidez da superfície do polímero polimetil metacrilato da base das próteses parciais e totais removíveis pode provocar uma ação irritativa mecânica[16-17], e esta pode ser mais pronunciada no período imediatamente após procedimentos cirúrgicos, presença de severa reabsorção óssea, mucosa atrófica, irregularidades ósseas, hábitos parafuncionais, e/ou relação oclusal incorreta e eventual falta de ajuste. Materiais de reembasamento macios foram desenvolvidos para melhorar o conforto para o uso de prótese convencional, especialmente para pacientes que não toleram a base de prótese confeccionada com acrílico rígido[18-19]. As propriedades mecânicas de elasticidade e viscoelasticidade inerentes ao reembasador macio proporcionam conforto aos

portadores destas alterações por meio de um efeito amortecedor para os tecidos de suporte da prótese[20]. Os materiais reembasadores macios são classificados de acordo com a composição e o tempo de uso. Segundo a composição, são encontrados materiais à base de resina acrílica e à base de silicone (polidimetil siloxano). De acordo com a ISO 10139-1[21] e ISO 10139-2[22] os materiais macios são classificados também quanto ao tempo de uso em temporários (short term) e permanentes (long term). A norma ISO considera que os materiais de curta duração sejam utilizados dentro de 30 dias, e também são chamados de condicionadores de tecido. Os reembasadores de longa duração são aqueles que mantêm suas propriedades de resiliência por até um ano. Uma das técnicas de reembasamento dessas próteses é realizada no próprio consultório. Nesse método, denominado reembasamento imediato ou direto, utilizam-se os materiais de resina acrílica autopolimerizável ou silicone, especialmente formulados para essa finalidade, os materiais reembasadores diretos. Ou seja, com esse método eliminam-se as fases de inclusão e prensagem necessárias à realização do reembasamento do tipo mediato, sendo por esse motivo, mais fácil, rápido e de custo acessível. Este tipo de reembasamento também está indicado quando verificada falta de estabilidade das bases da prótese na sessão de instalação. Outras indicações desta técnica são: após cirurgias, moldagens durante o período de osseointegração de implantes, ou para retenção de próteses overdentures implanto-suportadas[23-27].

As resinas para a confecção de bases têm apresentado diferentes graus de toxicidade in vitro e de respostas alérgicas in vivo, provavelmente em função de componentes que não reagiram durante o processo de polimerização ou pela reação de seus subprodutos. Estudos têm demonstrado que as substâncias potencialmente tóxicas originadas de resinas de base incluem metil metacrilato, formaldeído, ácido metacrílico e ácido benzóico[28-30]. Os reembasadores macios, de composição à base de resina acrílica, por sua vez, demonstraram vários graus de toxicidade in vitro e in vivo, também devido à lixiviação de componentes que não reagiram durante o processo de polimerização ou de produtos residuais[31-33]. Existe uma preocupação em relação ao efeito negativo de substâncias residuais distribuídas em um meio aquoso que podem atuar mesmo em locais distantes da área de contato da resina e, portanto, grandes áreas de mucosa podem ser expostas a compostos tóxicos durante um longo período de tempo[30]. Estudos mostram que os reembasadores macios à base de resina acrílica

apresentam plastificantes que podem ser liberados em água[34-35] e induzir efeitos nocivos para os tecidos biológicos[31-33,36].

Os efeitos de substâncias tóxicas na mucosa foram encontrados através de estudos in vitro, estudos com animais e observações clínicas [31-32,37-40]. O teste de citotoxicidade utilizando o método de cultura de células é considerado um importante teste preliminar para avaliar a biocompatibilidade de um material[41-42]. Tay et al.[33] analisaram quantitativamente a citotoxicidade de reembasadores macios por meio de incorporação de radioisótopo 3H-timidina. Os resultados desse estudo classificaram reembasadores macios, à base de resina acrílica (Trusoft, Dentuflex), como levemente citotóxicos e discretamente citotóxicos, uma vez que as substâncias liberadas por estes materiais afetaram biologicamente as células de fibroblastos de hamster L-929. Não obstante a sua importância científica, os ensaios de citotoxicidade são considerados os testes iniciais e não devem ser diretamente extrapolados para os pacientes[43]. No entanto, poucas informações foram encontradas no que diz respeito ao comportamento biológico desses materiais em testes secundários, realizados diretamente em animais[44-46]. O passo seguinte para avaliar o comportamento biológico de materiais são os testes de uso ou aplicação. Para este propósito testes de experimentação animal ainda têm sido a única forma geralmente aceitável de testar a biocompatibilidade dos materiais dentários[47].

Tratamentos térmicos após a polimerização da resina acrílica têm sido demonstrados efetivos em reduzir a quantidade de monômeros residuais de resinas acrílicas polimerizadas[48] e de reembasadores para base de prótese[49,50]. O tratamento térmico após polimerização, a 55º C durante 10 minutos em materiais reembasadores rígidos demonstrou ser efetivo na redução da quantidade e tempo de liberação de monômeros, e também, demonstrou reduzir a quantidade e tempo de liberação de plastificantes para o material reembasador que apresentava o plastificante dibutil n-ftalato na composição[50]. Esta redução de monômeros residuais e plastificantes pode, em teoria, diminuir a liberação de substâncias tóxicas residuais dos materiais reembasadores resilientes de prótese, e consequentemente minimizar o potencial destas substâncias em causar irritação, resposta alérgica e sintomas decorrentes a estas substâncias. Na literatura é demonstrada uma redução da citotoxicidade da resina acrílica de base com um tratamento térmico de 55ºC durante 60 min[51] e uma menor

citotoxicidade de um reembasador rígido utilizando um tratamento térmico a 55ºC durante 10 minutos[52].

A rugosidade da superfície é caracterizada por irregularidades, que pode afetar diretamente ou indiretamente a saúde dos tecidos orais, além de ser um dos fatores agravantes de manchamento, de deposição de cálculo e de aderência bacteriana[53-55], que, consequentemente, diminuem a longevidade dos reembasadores macios[56]. A perda de integridade da superfície e elasticidade pode ocorrer durante os primeiros sete dias após a aplicação[57] Esta perda gradativa de suas propriedades físicas e o aumento de rugosidade superficial podem também ocasionar irritações na mucosa de suporte, facilitar a aderência de micro-organismos, colonização de *Candida* e desenvolvimento de estomatite protética[53-54]. Assim, a degradação acentuada da superfície dos materiais macios utilizados em próteses acarreta um ônus direto aos pacientes, que serão submetidos à dificuldade de higienização das mesmas, e assim serão expostos ao comprometimento da própria saúde[53]. A rugosidade da superfície é caracterizada por irregularidades, que pode afetar diretamente ou indiretamente a saúde dos tecidos orais, além de ser um dos fatores agravantes de manchamento, de deposição de cálculo e de aderência bacteriana[53-55] que, consequentemente, diminuem a longevidade dos reembasadores macios[56]. A perda de integridade da superfície e elasticidade pode ocorrer durante os primeiros sete dias após a aplicação[57]. Esta perda gradativa de suas propriedades físicas e o aumento de rugosidade superficial podem também ocasionar irritações na mucosa de suporte, facilitar a aderência de micro-organismos, colonização de *Candida* e desenvolvimento de estomatite protética[53-54]. Assim, a degradação acentuada da superfície dos materiais macios utilizados em próteses acarreta um ônus direto aos pacientes, que serão submetidos à dificuldade de higienização das mesmas, e assim serão expostos ao comprometimento da própria saúde[53].

A partir da premissa que estudos in vivo são de vital importância para obtenção de informações do comportamento físico e biológico dos materiais odontológicos e seus componentes, pode-se considerar oportuno avaliar a rugosidade superficial e a biocompatibilidade de materiais reembasadores macios in vivo. Além disso, verifica-se carência de estudos que investiguem o efeito de tratamentos térmicos de pós polimerização nas características histomorfométricas de tecidos in vivo.

2 PROPOSIÇÃO

2.1-OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente estudo foi avaliar mudanças histológicas do palato de ratos após a utilização de reembasadores resilientes, frente ou não a um tratamento térmico, e investigar a rugosidade superficial destes materiais in vivo

2.2-OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos do presente estudo foram:

-mensurar quantitativamente as mudanças histológicas do palato de ratos após a utilização de reembasadores resilientes.

-testar a hipótese nula de que um tratamento térmico de pós polimerização não afeta as características histomorfométricas no palato de ratos, quando utilizados os seguintes materiais resilientes: Dentusoft, Dentuflex e Trusoft.

- investigar mudanças na rugosidade superficial dos materiais resilientes Dentusoft, Dentuflex, Trusoft e Ufigel P após 14 dias em modelo animal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAIS

Neste estudo foram utilizados três reembasadores macios (dois à base de resina acrílica e um à base de silicone) indicados para reembasamento de próteses removíveis, um condicionador de tecidos (à base de resina acrílica) e uma resina acrílica termopolimerizável para base de próteses (Quadro 1).

Quadro 1: Materiais e respectivas composições de acordo com a bula dos fabricantes.

Material	Marca comercial /fabricante	Composição	Proporção
Reembasador resiliente à base de resina acrílica	Dentuflex (Densell, Buenos Aires, Argentina)	Pó: polietil metacrilato,peróxido de benzoíla Líquido: n-butil metacrilato, dibutilftalato, Trimetacrilato, dimetil- p-toluidina.	Pó: 2 g Líquido: 1mL
	Trusoft (Bosworth Co., Skokie, IL, EUA)	Pó: polietil metacrilato pigmentado, Pigmentos de cádmio (pigmento rosa) Líquido: álcool etílico, plastificante	Pó: 1,06 g Líquido: 1mL
Reembasador resiliente à base de silicone	Ufigel P (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemanha)	Polidimetilsiloxanos modificados e catalisador de platina	1:1 (comprimentos iguais das pastas base e catalisadora)
Condicionador de tecido	Dentusoft (Densell, Buenos Aires, Argentina)	Pó: polietil metacrilato, peróxido de benzoíla, óxido de titânio. Líquido: dibutil ftalato, álcool.	Pó: 2 g Líquido: 1mL
Resina acrílica termo Polimerizável	Lucitone 550 (Dentsply Petrópolis, RJ, Brasil)	Pó: copolímero (metil-n-butil) metacrilato, peróxido de benzoíla e corantes minerais. Líquido: metacrilato de metila, etilenoglicol dimetacrilato e hidroquinona.	Pó: 2,1 g Líquido: 1mL

ANIMAIS

Cinquenta ratos adultos fêmeas (*Rattus Norvergicus albinus*, Wistar), com 60 dias de idade, pesando de 180 g a 250 g foram utilizados neste estudo. Os animais foram mantidos em gaiolas separadas, a 23°C com 56% de umidade relativa, alternando ciclos claro/escuro de 12 h. Os animais foram alimentados com uma dieta nutricionalmente completa e com água *ad libitum* (Nuvilab CR-1, Nuvital, Brasil). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa (COEP / UEPG) (Arquivo: 11/2010, Protocolo: 12673/2010) (ANEXO A) e um protocolo de acordo com as orientações do COBEA (Colégio Brasileiro de Animal Experimentação) foi seguido.

Os animais receberam dieta pastosa uma semana antes da tomada das impressões para obtenção de modelos de gesso. A ração utilizada (Nuvilab CR-1, Nuvital, Brasil) era triturada e umidificada com água no momento da colocação nas gaiolas[58] sendo permitido acesso livre somente de água durante as 12 h prévias ao procedimento. Os animais foram anestesiados através da administração de uma solução de ketamina (100 mg / ml) e xilazina (100 mg / ml) que foi feita uma solução com 3,75 ml de ketamina e 0,5 ml de xilazina em 5,75 ml de água para injeção. A injeção intraperitoneal de 0,2 ml/100 g desta solução foi utilizada para sedar os ratos durante aproximadamente 30 min, necessários para os procedimentos experimentais[59].

GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos em grupos de acordo com os materiais testados (Figura 2). Nos grupos G2 a G5 foram utilizados 10 animais para cada grupo, sendo que metade dos animais dos grupos G3 a G5 (n=5) tiveram suas placas imersas em água a 55ºC por 10 min em aparelho termo polimerizador (Campanha et al., 2006) e metade dos animais do grupo G2 (n=5) tiveram suas placas imersas em água a 55ºC por 60 minutos[51]. Nos grupos G1e G6 foram utilizados cinco animais em cada grupo, sendo que o grupo G6 foi utilizado apenas para o teste de rugosidade e não recebeu tratamento térmico e o grupo G1 não recebeu placas palatinas (grupo controle).

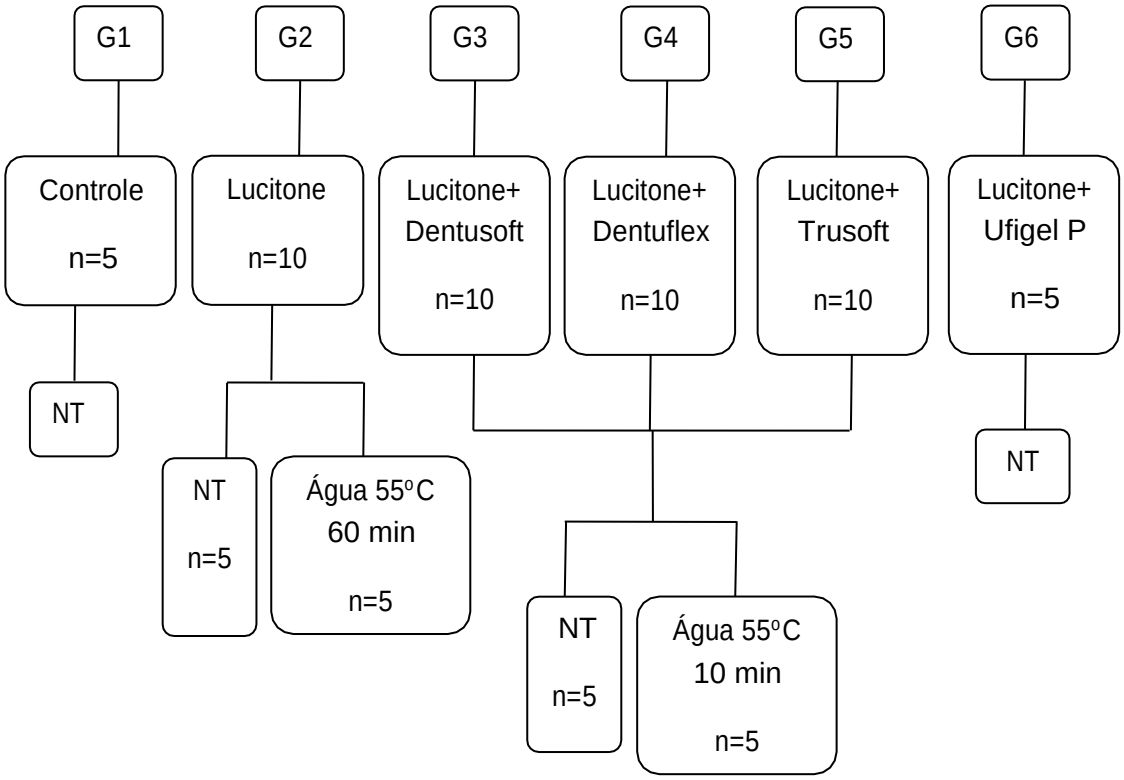


Figura 1: Grupos experimentais do estudo.

CONFECÇÃO DAS PLACAS PALATINAS

Antes da moldagem e após a administração da anestesia, cada animal foi pesado, utilizando-se uma balança analítica (Gehaka, Ind. e Com. Eletro -. Eletrônica Gehaka Ltda, São Paulo, Brasil). Depois de ser realizada a moldagem funcional com silicona de adição individualizada para cada animal (Figura 2), e obtenção da cópia positiva em gesso tipo IV (G4, SSWhite, São Paulo,SP, Brasil) (Figura 3) foi realizado um enceramento com cera 7 no palato estendendo-se até a região cervico-vestibular dos molares (Figura 4).

Figura 2: Moldagem funcional com silicona de adição.

Figura 3: Modelo em gesso tipo IV.

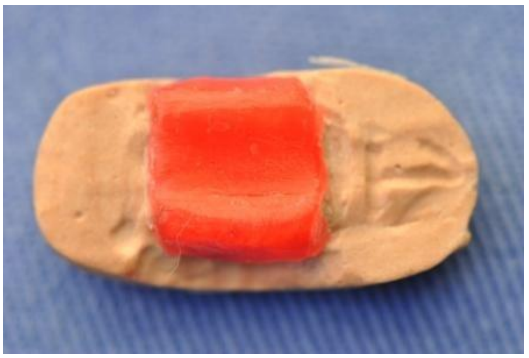


Figura 4: Enceramento das placas palatinas.

Os modelos foram inseridos em muflas odontológicas parafusadas nº 6 (Bethil Indústria e Comércio Ltda., Marília, SP, Brasil) de maneira convencional (figura 5) e em seguida as placas foram acrilizadas. Resina acrílica Lucitone 550 (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) foi termo polimerizada de acordo com o protocolo do fabricante. O ciclo de polimerização utilizado foi processado durante 90 min a 73ºC e, em seguida em ebulição durante 30 min (ciclo curto). Após a polimerização, as muflas foram deixadas à temperatura ambiente durante 30 min e sob água corrente durante 15 min antes de serem abertas. Os dispositivos foram inspecionados visualmente, para verificar que eles apresentaram superfície lisa e não mostraram bolhas ou porosidade, caso contrário, foram descartados. Os bordos da base da prótese foram cuidadosamente acabados para remover as irregularidades. Após a obtenção das placas acrílicas (Figura 6), as mesmas foram armazenadas em 50 ml de água destilada durante 48 h a 37 °C antes da inserção, a fim de eliminar possíveis monômeros residuais[60-61].

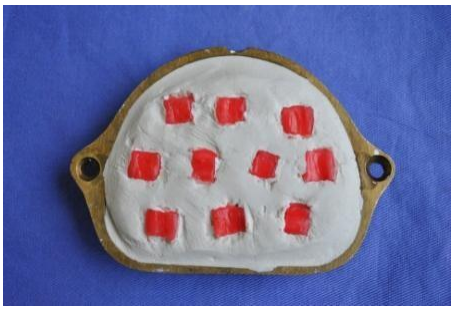


Figura 5: Inclusão das placas enceradas em mufla.

Figura 6: Placas palatinas confeccionadas em resina termopolimerizável.

FIXAÇÃO DAS PLACAS PALATINAS E REEMBASAMENTO

Após os animais terem sido sedados, eram deixados de boca aberta num suporte apropriado e as placas eram reembasadas e fixadas dentro do tempo da sedação de cada animal. As placas palatinas pertencentes aos animais dos grupos G3, G4, G5 e G6 foram reembasadas por meio de impressões funcionais (n = 5). Todos os materiais macios foram manipulados de acordo com as recomendações do fabricante, inseridos na placa e colocados no palato durante sua polimerização, de acordo com o recomendado pelos fabricantes (Figura 7). Logo após o reembasamento (G3 a G6), e anteriormente à fixação, metade dos animais dos grupos G3 a G5 (n=5) receberam as coberturas palatais após o tratamento das placas imersas em água a 55 ºC por 10 min em aparelho termo polimerizador[52] e metade dos animais dos grupos G2 (n=5), receberam as coberturas palatais após o tratamento das placas imersas em água a 55 ºC por 60 min em aparelho termo polimerizador[51].

Figura 7- Procedimento de reembasamento das placas (manutenção na boca do animal , segundo as recomendações de cada material)

A fim de promover uma retenção mecânica nos molares e fixar o dispositivo palatal, foi padronizada uma canaleta na região de cobertura dos molares usando uma broca esférica n°6. Resina composta fotopolimerizável (Opallis, FGM, São Paulo, Brasil) foi utilizada para preencher esta região e as placas foram levadas em posição. A resina composta foi fotopolimerizada por 20 s sobre a placa de acrílico no lado esquerdo e direito do palato (Optilight LD Max, Gnatus Equipamentos Médico-Odontológicos Ltda, Ribeirão Preto, S, Brasil) enquanto a placa se encontrava em posição. Os animais utilizaram as placas palatinas durante 14 dias, mantendo dieta pastosa e água *ad libitum.*

ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

Após 14 dias, os animais foram pesados e sacrificados de acordo com as normas da Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL-COBEA). As placas palatinas foram removidas, e os palatos foram dissecados a partir das cabeças (Figura 8) e fixados em formalina tamponada a 10% durante um tempo mínimo de 24 h e máximo de 48 h.

Figura 8: Palato dissecado.

Os blocos foram desmineralizados em 4,13% de EDTA e, em seguida, foram cortados no plano sagital posteriormente aos dentes molares. Os blocos foram processados e incluídos em parafina a fim de serem cortados a partir da face posterior de cada bloco. Cortes histológicos de 5 µm em diferentes níveis foram feitos em micrótomo (Leica, Berlim, Alemanha) e corados com hematoxilina e eosina (HE). As lâminas foram montadas e observadas em microscópio (Nikon - Modelo YS 100, Tóquio, Japão).

Para cada animal, em todos os grupos, foram feitas duas fotos padronizadas (aumento de 20 X) de duas regiões: próxima ao plexo nasopalatino e na linha média da rafe palatina. Estas imagens foram medidas por planimetria computadorizada, utilizando-se o software Image Pro Plus Version 4.5.0.29 (Media Cybernetics Inc., Bethesda, MD, EUA). Para cada foto foi mensurado o comprimento da membrana basal (BL). E as espessuras de camada de queratina (KC) e compartimento celular (CC) foram medidas usando uma grade padronizada de 10 linhas horizontais, que deram uma média de 10 medições de cada foto. A soma das espessuras do compartimento queratinizado (KC) com o compartimento celular (CC) resultou na média do epitélio total (TE).

MENSURAÇÃO DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL

A avaliação da rugosidade superficial foi realizada em amostras imediatamente reembasadas com os materiais testados (RaI) e após os 14 dias da utilização das placas (RaF) dos grupos G3, G4, G5 e G6. As placas acrílicas foram fixadas sobre uma massa de modelar com a superfície palatina voltada para cima e levadas ao rugosímetro - SURFTEST SJ-401 (Mitutoyo Sul Americana Ltda, Santo) (Figura 09). Foram realizadas oito leituras padronizadas (Figura 10) com a agulha do rugosímetro posicionada perpendicularmente à amostra (Figura 11), com os seguintes parâmetros:

- Comprimento da onda limite (−cut – off −) λc: 0,25 mm.
-Filtro de Gauss.
-Perfil Retificado.
-Percurso de medição (L Evalua.): 1,25 mm.

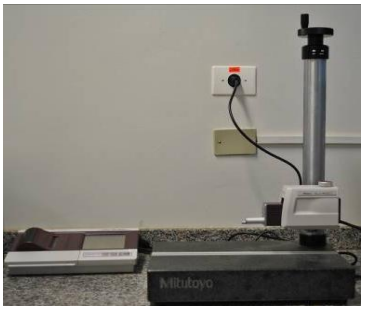


Figura 9: Rugosímetro Surftest SJ- 401.

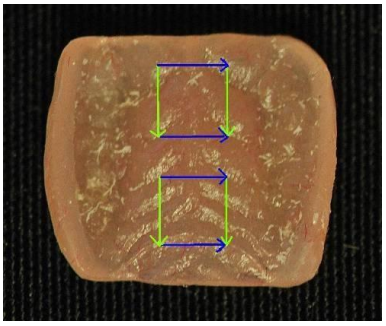


Figura 10: Esquema das oito leituras.

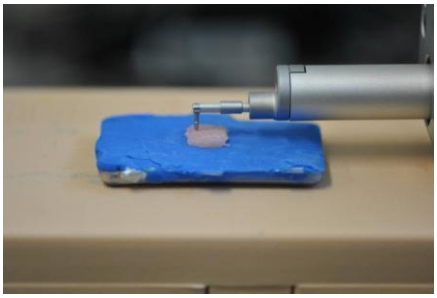


Figura 11: Amostra posicionada para leitura.

Cada amostra forneceu o valor médio das oito leituras, o qual foi expresso em Ra (valor médio da rugosidade superficial)[62-63]. O parâmetro Ra (µm) foi escolhido para proporcionar condições para a comparação com os resultados de outros estudos,

refletindo o valor da média aritmética de todas as distâncias absolutas do perfil de rugosidade[62-63].

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados da análise quantitativa histológica foram analisados usando o IBM® SPSS Statistics® 20 software. Foram obtidas as médias das duas regiões analisadas para cada variável como meio de melhorar a consistência das médias. Normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias foram analisadas por Shapiro Wilks e Levene, respectivamente. O peso do animal inicial e após 14 dias foram comparados utilizando teste de Wilcoxon. ANOVA e teste de Tukey foram utilizados para comparar a biocompatibilidade de materiais testados de acordo com os parâmetros de morfologia do epitélio mensurados, após transformação logarítmica (base-10). A mesma análise foi aplicada para os materiais testados após tratamento térmico pós-polimerização. Variáveis de distribuição não-normal foram estudadas empregando-se análise de variância e testes não-paramétricos de comparações múltiplas. Teste "t" de Student foi utilizado para comparar os valores a partir de materiais testados com e sem tratamento térmico de pós-polimerização para todas as variáveis. Todas as inferências estatísticas foram realizadas assumindo-se um nível de significância de 5%.

Foi realizado o teste post-hoc do poder da amostra dos dados de rugosidade superficial utilizando o software G * Power 3.1[64]. Os dados da rugosidade superficial foram submetidos ao ANOVA dois fatores (Material x Tempo), seguido do teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

As imagens obtidas de todos os grupos testados foram analisadas em microscópio (Nikon - Modelo YS 100, Tóquio, Japão) para a verificação da presença de infiltrado inflamatório, sua localização e tipo, alterações na morfologia celular e atipias celulares, como alteração da relação núcleo-citoplasma, hipercromatismo celular, mitoses, perda de coesão celular e queratinização individual.

4 CAPÍTULOS

CAPÍTULO 1

"Propiedades de materiales resilientes para rebase de

Prótesis"

Tay LY, Bail M, Herrera DR, Jorge JH. Propiedades de materiales resilientes para rebase de prótesis. Rev Estomatol Herediana. 2011; 21(1):102-109.

Tay LY, Bail M, Herrera DR, Jorge JH. Propiedades de materiales resilientes para rebase de prótesis. Rev Estomatol Herediana. 2011;21(1):102-109.

RESUMEN

La presente revisión de literatura tiene por objetivo mostrar las principales características, ventajas y limitaciones de los rebases blandos con el fin de acercar su utilización al clínico general. Los materiales resilientes para rebase de prótesis han sido desenvueltos para minimizar las posibles molestias causadas por las bases de las prótesis en la mucosa. Estos materiales forman un grupo de materiales elásticos que llenan total o parcialmente la base de la prótesis, con la finalidad de disminuir el impacto de la fuerza masticatoria sobre la mucosa de revestimiento,pudiendo ser utilizados como material temporal o de un carácter más permanente. Los rebases blandos además de clasificarse según el tiempo de uso como provisionales (corta duración) o permanentes (larga duración), estos pueden ser divididos según la base del material: acrílico o silicona. Dentro de las indicaciones se encuentran la estabilización de prótesis después de cirugías, el condicionamiento de tejidos fibromucosos, el rebase de prótesis provisionales durante el periodo de óseo integración de implantes o como medio retentivo para sobredentaduras implanto-soportadas, además pueden ser utilizados como material para impresiones funcionales. A pesar de los materiales resilientes para rebase de prótesis poseen algunas desventajas, estos pueden ser usados para el rebase de prótesis removible parcial o total con un buen desempeño clínico, al indicarlas correctamente y por un tiempo determinado.

Palabras clave:

REBASADO DE DENTADURAS/ RESINAS ACRÍLICA / ALINEADORES DENTALES

Tay LY, Bail M, Herrera DR, Jorge JH. Propiedades de materiales resilientes para rebase deprótesis. Rev Estomatol Herediana. 2011; 21(1):102-109.

ABSTRACT

The objective of this literature review is to show the main features, advantages and limitations of soft liners to bring information for the general dentist use. Soft liners have been developed to minimize any inconvenience caused by the hard bases of the prosthesis in the mucosa. These materials form a group of elastic materials that fill all or part of the prosthesis denture base, in order to reduce the impact force on masticatory mucosa, this soft liner can be used as temporary or more permanent material. Soft liners can be classified according to time of use as temporary (short term) or permanent (long term), and also these can be divided according to the material: acrylic based or silicone based. The indications are stabilizing prosthesis after surgery, fibromucosous tissue conditioning, the breaching of temporary restorations during the osseointegration of implants to over-retentive implant-supported dentures, it can also be used as material for functional impressions. Although soft liners have some disadvantages, they can be used for the relining of partial or complete removable prosthesis with a good clinical performance, with correct indications and for a given time.

Key words: DENTURE REBASING / ACRYLIC RESINS / DENTURE LINERS.

INTRODUCÍON

La rehabilitación de pacientes edentulos con prótesis total y/o prótesis parcial removible tiene como objetivo la preservación de los dientes remanentes y del reborde óseo, así como el reestablecimiento de la función masticatoria y estética. Sin embargo, la reabsorción del hueso alveolar es un proceso crónico e irreversible que, si no es controlado, podría generar desajustes en las bases acrílicas de las prótesis causando molestias al paciente y la incidencia de fuerzas horizontales nocivas sobre los dientes pilares, como sucedeen los casos de prótesis parciales de extremo libre (1). Además, el desajuste en las bases puede favorecer a la concentración de fuerzas en determinadas zonas del reborde, acelerando el proceso de reabsorción ósea (2). Viendo estos efectos, la adaptación de las bases acrílicas debe ser periódicamente controlada y si se encontrara un desajuste, estas prótesis deben ser readaptadas a los tejidos subyacentes. De esa forma, los pacientes deben asistir al consultorio periódicamente para la evaluación del tratamiento y para el rebase de sus prótesis. Una de las técnicas de rebase de estas prótesis es realizada en el propio consultorio usando materiales especialmente producidos para esta finalidad, los rebases directos. Este método denominado rebase inmediato puede ser utilizado con materiales rígidos o blandos, los cuales eliminan la fase de laboratorio donde se tiene que realizar el prensado para el rebase de la prótesis. Siendo por este motivo una técnica más simple, rápida y económica. La resina acrílica química o térmicamente activada es el material que más se utiliza para confeccionar las bases de prótesis removibles totales o parciales. Este material presenta varias características y propiedades deseables, como estética satisfactoria, buena resistencia, bajo costo y facilidad de manipulación (3). Sin embargo, por ser un material rígido puede causar incomodidad y lesiones a los tejidos bucales de algunos pacientes (4). Por estas razones, investigadores desarrollaron materiales reembasadores resilientes, también conocidos como condicionadores de tejido, bases blandas o soft liners. De esta forma la presente revisión de literatura, tiene por objetivo mostrar las principales características, ventajas y limitaciones de los rebases blandos con el fin de acercar su utilización al clínico general.

Rebases blandos

Los rebases blandos han sido desenvueltos para minimizar las posibles molestias causadas por las bases de las prótesis en la mucosa. Estos materiales forman un grupo de materiales elásticos que llenan total o parcialmente la base de la prótesis, con la finalidad de disminuir el impacto de la fuerza masticatoria sobre la mucosa de revestimiento, pudiendo ser utilizados como material temporal o de un carácter más permanente (5,6).

Estos materiales han sido desarrollándose y mejorando con el pasar del tiempo desde su introducción en 1950. Hasta el momento, los estudios de laboratorio muestran que ninguno de estos materiales resilientes utilizados como revestimiento de prótesis es completamente exitoso (7,8). Aunque los materiales resilientes actuales todavía no son los ideales, Crum et al.(9) relataron en un estudio clínico que 26 de 30 portadores de dentadura prefieren los revestimientos resilentes que las prótesis convencionales de resina acrílica dura por causa de una mejor estabilidad, retención y conforto. Wright (1976) (10), relató la existencia de más de 5000 portadores de prótesis con material resiliente en Inglaterra y en el País de Gales en 1974. Wright (1981) (7), más tarde relató que fueron introduzidos de 1 a 5% de materiales resilientes en las prótesis totales mandibulares producidas Hayakawa et al. (2000) (11), demostraron que la aplicación de un material blando en la prótesis mandibulares mejora la eficacia masticatoria y la fuerza de mordida, además de mejorar el ritmo de masticación (11).

Clasificación

La Organización Internacional para Estandarización (ISO) ha clasificado dos estándares relacionados a los rebases blandos: ISO 10139- 1:1991, Materiales blandos para dentaduras removibles - Parte 1: materiales de corta duración para dentaduras removibles (12) y el ISO 10139-2:1999, Materiales blandos para dentaduras removibles – Parte 2: materiales para uso de larga duración (13). El ISO clasifica estos materiales como de corta duración a aquellos rebases que pueden ser utilizados hasta 30 días, son conocidos también como acondicionadores de tejido. Los rebases blandos de larga duración son aquellos que mantienen la resiliencia y elasticidad por más de 30 días. Otros autores refieren que los rebases blandos de larga duración pueden ser utilizados por más de 1 año, estos son clasificados como rebases blandos permanentes por su relativa longevidad. La longevidad de estos materiales está relacionada con las propiedades de absorción y solubilidad de cada material (14). Los rebases, con el uso se vuelven más rígidos y presentan menor fluidez debido a la pérdida de componentes que mantienen la textura blanda del material (6).

Composición

Los rebases blandos además de clasificarse según el tiempo de uso como provisionales (corta duración) o permanentes (larga duración), estos pueden ser divididos según la base del material: acrílico o silicona (15); y subivididos en cuatro grupos de acuerdo a su composición: a base de silicona termopolimerizada, a base de silicona autopolimerizable, a base de resina acrílica termopolimerizable y a base de resina autopolimerizable (16-19). La tabla 1 muestra los diferentes materiales resilientes

para rebase de prótesis según la composición y las marcas comerciales que encontramos en el mercado.

Los rebases a base de resina acrílica químicamente activada o autopolimerizable consisten en un polímero (etilmetacrilato o copolímero) y un líquido, mezcla de un éster aromático (dibutilftalato) y etanol, además de la adición de agentes plastificantes (20). Estos polímeros se presentan en forma de polvo que luego es mezclado con el líquido que contiene de 60% a 80% de un agente plastificante. De esta mezcla se obtiene un gel que permite el uso de este material como absorbente de impactos. El agente plastificante (dibutilftalato) es una molécula grande que minimiza el entrecruzamiento de cadenas poliméricas permitiendo así que cadenas individuales puedan deslizarse una sobre otra. El plastificante disminuye la temperatura de transición vítrea de la resina a un valor inferior al de la cavidad bucal, permitiendo que el material sea más resiliente debido a la disminución del módulo de elasticidad (21). La mayor ventaja de estos materiales es su facilidad de manipulación (3).

Los rebases a base de silicona están compuestos de polímeros de dimetil siloxano, que por medio de ligaciones cruzadas forman un material que proporciona buenas propiedades elásticas, son químicamente activados y presenta un sistema de dos componentes que polimerizan por reacción de condensación. Este material es químicamente estable (22) y aunque la elasticidad se mantiene, este material no se adhiere directamente con la resina acrílica, necesita de un sistema adhesivo para la unión entre el rebase y la prótesis y esa adhesión no es la suficiente (19).

Las diferentes composiciones de los materiales pueden ser responsables por algunas alteraciones físicomecánicas. Por ejemplo, los reembasadores a base de resina acrílica en medio acuoso están afectados constantemente por procesos de absorción de agua y liberación de plastificantes en su composición, pudiendo presentar alteraciones dimensionales, reducción de la resiliencia y alteraciones de color y olor (21,23). Los reembasadores a base de silicona presentan mejores propiedades viscoelásticas, pero tienen como desventaja la falla en su adhesión a la base de la prótesis de resina acrílica, siendo necesario el uso de un adhesivo, generalmente a base de vinil-silano, disuelto en etilacetato o tolueno, para ayudar en la adhesión (24).

Indicaciones

Los polímeros resilientes han sido utilizados como materiales de revestimiento de prótesis a corto y largo plazo. Debido a sus propiedades viscoelásticas, estos materiales tienen la capacidad de absorber energía de impacto de las fuerzas masticatorias y distribuirlas uniformemente sobre los tejidos de soporte, dando más comodidad al paciente (15), pudiendo ser utilizados provisional o permanentemente, según el tipo de material (16). Marchini y Cuña (1998) (25) resaltan el uso de estos materiales en pacientes intolerantes al uso de prótesis totales con bases convencionales, es decir, de bases rígidas. Los rebases de corta duración son materiales provisionales, cuya utilización debe estar

limitada al tiempo necesario para obtener tejidos saludables; dentro de las indicaciones se encuentran la estabilización de prótesis después de cirugías, el condicionamiento de tejidos fibromucosos, el rebase de prótesis provisórias durante el periodo de óseo integración de implantes o como medio retentivo para sobredentaduras implanto-soportadas (15), además también pueden ser utilizados como material para impresiones funcionales (26). Puede ser utilizado también junto con una prótesis removible de diagnóstico, también conocida como temporal o transitoria. Las prótesis removibles de diagnóstico son utilizadas para evaluar la dimensión vertical del paciente, para restablecer estética o para testar la tolerancia y la aceptación de una prótesis removible. Estas prótesis también se utilizan en programas preventivos para evaluar la higiene del paciente antes de empezar un tratamiento definitivo, el cual es más costoso. Este procedimiento también puede ser usado para evaluar la actual prótesis removible del paciente. El rebase resiliente puede ayudar en determinar el grosor de un futuro rebase convencional, o la evaluación puede mostrar que es necesario colocar una nueva prótesis (27).

Limitaciones

La técnica de rebase interno de las bases de prótesis con materiales resilientes presenta diversas limitaciones debido al compromiso gradual de algunas de sus propiedades, lo que inviabiliza su uso por períodos prolongados. Estudios demuestran que ni los materiales considerados más adecuados para el uso odontológico consiguen permanecer en función por periodos superiores a 1 o 2 años sin sufrir degradación de las propiedades físico-mecánicas (28,29). La separación de los rebases resilientes de la base de la prótesis compromete la durabilidad del rebase y puede ocurrir debido a la baja resistencia del material y a las fuerzas de tracción, cizallamiento que comprometen la adhesión a la base de la prótesis. La formación de fisuras o irregularidades en la superficie rebasada puede favorecer también la adhesión y proliferación de microorganismos (30). A pesar de que estos materiales son blandos, algunas características indeseables como alteraciones dimensionales, solubilidad y absorción de fluidos son bastante comunes (14). Esto ocurre principalmente en los materiales a base de resina acrílica, donde ocurre pérdida de componentes (plastificantes) hacia el medio oral, absorción de agua con el consecuente endurecimiento del material (21), comprometiendo su longevidad (31).

Los materiales a base de silicona presentan ventajas en relación a los anteriores ya que mantienen la resiliencia (32) y presentan mejor desempeño en áreas finas e irregularesde la mucosa. Por otro lado, presentan como principal desventaja, la falta de adhesión a la base de resina acrílica convencional de las prótesis (33,34). Siendo así, el compromiso de la adhesión del reembasador a la resina acrílica es uno de los problemas más frecuentes verificados durante el uso de prótesis rebasadas y que es de gran relevancia clínica (35). Diversas metodologías se han aplicado para la evaluación de

calidad de la adhesión de los reembasadores a la resina acrílica como las pruebas de resistencia a la tracción, al cizallamiento y al rasgado (23,24,28,30,36,37).

Propiedades

Las propiedades más deseables para rebases blandos incluyen la baja absorción de agua, estabilidad en el color, resiliencia permanente, alta fuerza adhesiva a la prótesis, estabilidad dimensional, de fácil manejo y biocompatibilidad.

Visco-elasticidad.

Clinicamente, los materiales reembasadores están expuestos a dos tipos de estrés: fuerzas masticatorias, predominantemente intermitentes y aplicadas en rápidos intervalos y a largo plazo, y las fuerzas menores causadas por la presión funcional o mudanzas en la mucosa bucal durante la masticación (16). La eficacia de los materiales blandos para rebase es atribuida a sus propiedades visco-elásticas y relacionadas principalmente con la flexibilidad del material, lo que mejora la absorción y redistribución de la energía generada por las fuerzas oclusales durante la función masticatoria. El mantenimiento de esta propiedad constituye uno de los mayores problemas en la utilización de estos materiales, ya que la mayoría no es estable en un medio acuoso como la cavidad oral (38,39). Murata et al. (2002) (16) demostró que reembasadores blandos temporales a base de acrílico poseen un comportamiento viscoelástico, mientras que los reembasadores blandos a base de silicona poseen un comportamiento elástico. Estas diferencias en las propiedades viscoelásticas dependen de la composición y la estructura del material reembasador. Lo ideal es que el material reembasador de largo plazo es que no escurra a lo largo del tiempo y mantenga la integridad de sus dimensiones, mientras que uno temporario deberia escurrir al sufrir las presiones continuas permitiendo los tejidos de la mucosa bucal ejecuten los procesos de cicatrización adecuadamente y sin interferencia de la protesis, así, se esperaría que los reembasadores temporales presenten propiedades viscoelásticas, mientras que para los permanentesse esperaria mayor elasticidad. De acuerdo con Polyzois (34) los valores de dureza de los materiales blandos varían de acuerdo con su composición química, a mayor cantidad de plastificante más resiliente el material será. Los rebases resilientes de larga duración presentan en su composición menor cantidad de plastificante.

Rugosidad.

Además de la flexibilidad de estos materiales también es de gran relevancia evaluar la característica superficial de ellos ya que la presencia de rugosidades puede causas acumulación de hongos y bacterias, llevando a la aparición de estomatitis. Por este motivo es ideal que las superficies de los

materiales utilizados para la confección de prótesis sean lisas para minimizar o impedir la acumulación de placa bacteriana (40), aunque que sea por un periodo de tiempo corto. Para Frisch et al. (41) cuanto mayor sea la dureza del material resiliente, mas lisa será la superficie. Si comparamos la rugosidad de los reembasadores según el material, encontramos que los rebases a base de silicona presentan superficie menos rugosa que los rebases a base de resina acrílica, esto se debe a la composición del material y por el método de manipulación (42), las siliconas son elastómeros que no necesitan plastificantes externos, de esa manera, al compararlos con los acrílicos, las siliconas son más estables ya que no liberan componentes químicos que durante un periodo de tiempo podrían modificar la estructura del material, a diferencia de los reembasadores a base de resina acrílica que al liberar estos componentes modifican su estructura durante el uso de la prótesis. Otra posible razón por la cual los materiales a base de resina acrílica son más rugosos que los de silicona sería por el método de manipulación.; durante la mezcla entre el polvo y el líquido de un reembasador a base de resina acrílica, puede ocurrir una incorporación de burbujas o puede evaporarse el líquido lo cual modificaría las características superficiales del material, aumentando la porosidad y consecuentemente la rugosidad (43). Los materiales a base de silicona se manipulan mezclando cantidades iguales de dos pastas (base y catalizador) disminuyendo así la posible formación de burbujas, no existiendo evaporación de monómero durante la mezcla.

Adhesión a la base de prótesis.

La falta de adhesión entre el material reembasador resiliente y la base de prótesis es uno de los mayores problemas encontrados por el material reembasador en el desempeño de una adecuada función (30,44-47). Esta falla en la unión entre el rebase resiliente y la base de la prótesis crea una superficie potencial para crecimiento bacteriano, acúmulo de placa y formación de cálculo (48). Idealmente los rebases resilientes deben adherirse adecuadamente a la base de polimetilmetacrilato (PMMA) con el fin de evitar fallas en la interfase durante la vida útil de la prótesis. En la literatura odontológica podemos observar la dificultad que existe en obtener una unión perfecta entre el material de base de prótesis a la base de PMMA y rebases resilientes (7,15,17,19,24,44,49-54). Según la composición de cada material, si fuera a base de acrílico o de resina, se optaría por el uso de agentes adhesivos específicos. Estos productos son de variadas composiciones y se utilizan en la base de la prótesis a base de PMMA previamente al uso de los rebases resilientes a base de silicona. La composición más común de estos agentes adhesivos es la base de una sustancia polimérica disuelta en un solvente. Estas sustancias pueden poseer moléculas reactivas (organosilano) o moléculas de PMMA disueltas en solventes que mejoran la adhesión del respectivo material a la base de PMMA (17). Las características mecánicas de los rebases resilientes y sus características de adhesión a la base de prótesis han sido evaluadas por varias pruebas mecánicas (15,19,24,44,49-51). La prueba de

elección en la literatura actual para evaluar la efectividad adhesiva es la prueba de tracción. Entre los materiales estudiados encontrados recientemente en el mercado, el Molloplast B (Detax GmbH, Ettingen, Germany) demostró en algunos estudios que tiene propiedad adhesiva aceptable, elasticidad adecuada y vida útil relativamente larga (55,56), sin embargo fue clasificado como uno de los materiales con baja resistencia de unión al compararlo con los materiales Vertex Soft (Vertex Dental, Zeilst, the netherlands), GC Reline Soft (GC, Tokyo, Japan) y Silagum Comfort (DMG, Hamburg, Germany), mostrando resultados de propiedad adhesiva similar a los materiales Flexacry Soft (Lang Dental, Wheeling, IL); Triad Resiline (Dentsply International Inc, York), aunque las fallas adhesivas del Molloplast B demostró un origen en el mismo material y no en la interface de unión con la base (57).Los rebases a base de silicona como: Mollosil Plus, Dentusil, Ufigel Soft, GC Reline Soft (GC Co, Tokyo, Japan), Silagum Confort (DMG, Hamburg, Germany); Silagum Comfort y GC Reline Soft mostraron resultados más altos de resistencia de adhesión a la base de prótesis, siendo que el GC Reline Soft demostró resultados similares en varios estudios científicos (24,57). Estos materiales no se adhieren a los materiales de la base de prótesis mediante unión química (58) sino por tratamiento de la superficie por un solvente que promueve parcialmente que se impregne una capa de polímeros acrílicos plastificada (57). Por lo tanto, para estos materiales, el agente de unión o primers son importantes para la unión satisfactória. Mutluay y Ruyter (2007) (57) confirmaron que alrededor del 80% de las fallas adhesivas con los materiales resilientes de rebase y base de prótesis ocurren muy cerca o en la interfase entre el agente de unión y el material resiliente. Esto se puede atribuir a varias imperfecciones en las capas de los agentes adhesivos, provenientes de efectos ambientales. Para obtener una unión satisfactoria de estos materiales a la base de prótesis es necesario estar atento a la contaminación, humedad no controlada y la estructura de la superficie del sustrato de la base de la prótesis. Cuando el solvente se evapora del agente de unión, los ingredientes poliméricos se precipitan y ocurre una contracción volumétrica. Esta contracción en la capa del agente de unión crea una capa con tensiones que afecta afectan las cadenas poliméricas que se forman. Por lo tanto, grandes variaciones en el grosor de la capa de precipitación del agente adhesivo también es un factor limitante de una buena adhesión de estos materiales a la base de prótesis.

Solubilidad.

Un problema común de los rebases resilientes es la solubilidad del material, esto ocurre por una secuencia de eventos: pérdida de etanol, absorción de agua y pérdida de plastificante (59). Se debe considerar también la característica hidrofílica del material (60), la cual contribuye positivamente en la absorción de agua y pérdida de plastificante para el medio (61). Factores como tipo de composición química y modo de manipulación del material también influyen, al manipularse el material pueden incorporarse burbujas de aire y consecuentemente microporos por donde el agua puede difundirse adentro del material (15) elevando los niveles de absorción de agua y solubilidad (62). Además, se

debe considerar el alto valor de solubilidad de este material, que clínicamente puede promover irritación a los tejidos bucales consecuente de la citotoxicidad proveniente del etanol (63) o de los mismos plastificantes liberados (64). En los materiales a base de silicona el almacenaje por largos periodos puede promover la absorción de agua, probablemente debido al tipo de carga contenida en su composición además del bajo grado de adhesión entre los polímeros de silicona, ocurriendo un ablandamiento del material (65) y disminución de los valores numéricos de dureza (60).

Conclusión

En la literatura revisada encontramos que a pesar de los materiales resilientes para rebase de prótesis poseen algunas desventajas, estos pueden ser usados para el rebase de prótesis removible parcial o total con un buen desempeño clínico, al indicarlas correctamente y por un tiempo determinado.

Tabla 1: Materiales resilientes para rebase de prótesis.

Material	Marca comercial	Fabricante
Condicionador de tejido	Coe-Comfort Tissue Conditioner	GC America
	Dentusoft	Densell
	Lynal	Dentsply Caulkf
	Softone Tissue Conditioner	Bosworth
	Visco-Gel	Dentsply Caulk
Rebase resiliente a base de resina acrílica	Coe-Soft Soft Denture Reline Material	GC America
	Dentuflex	Densell
	Perma Soft	Dentsply Caulk
	Tru-soft	Bosworth
Rebase resiliente a base de silicona	GC Chairside Soft & Extra Soft Denture Reline Material	GC America
	Luci-Sof Denture Liner System	Dentsply Caulkf
	Molloplast-B	Buffalo
	Mollosil plus	Buffalo
	Tokuyama Sofreliner	Tokuyama
	Ufi-gel P	Voco
	Versasoft	Sultan

Referencias Bibliográficas

1. Craig RG. Prosthetics applications of polymers. In: Restorative dental materials. 10 ed. St. Louis: Mosby: 1997.
2. Felton DA. Edentulism and comorbid factors. J Prosthodont. 2009;18(2):88-96.
3. Anusavice KJ. Phillip's science of dental materials. 11 ed. Philadelphia: Saunders, 2005.
4. Krammer KR. Tissue conditioners. J Prosthet Dent. 1984;51(2):147-51.
5. Brown D. Resilient soft liners and tissue conditioners. Br Dent J. 1988;164(11):357-60.
6. Murata H, McCabe JF, Jepson NJ, Hamada T. The influence of immersion solutions on the viscoelasticy of temporary soft lining materials. Dent Mater. 1996;12(1):19-24.
7. Wright PS. Composition and properties of soft lining materials for acrylic dentures. J Dent. 1981;9(3):210-23.
8. Murata H, Hamadab T, Sadamori S. Relationship between viscoelastic properties of soft denture liners and clinical efficacy. Japanese Dental Science Review. 2008;44(2):128-32.
9. Crum RJ, Loiselle RJ, Rooney GE Jr. Clinical use of a resilient mandibular denture. J Am Dent Assoc. 1971; 83(5):1093-6.
10. Wright PS. Soft lining materials: their status and prospects. J Dent. 1976;4(6):247-56.
11. Hayakawa I, Hirano S, Takahashi Y et al. Changes in the masticatory function of complete denture wears after relining the mandibular denture with a soft denture liner. Int J Prosthodont 2000;13(3):227-31.
12. International Organization for Standardization. ISO. 10139-1. Dentistry—resilient lining materials for removable dentures—part 1: short-term materials. 1st edition. December 1, 1991.
13. International Organization for Standardization. ISO/FDIS 10139-2. Dentistry—soft lining materials for removable dentures—part 2: materials for long-term use. 10139-2:1999(E).
14. Kawano F, Kon M, Koran A, Matsumoto N. Shock-absorving behavior of four processed soft denture liners. J Prosthet Dent. 1994;72(6):599-60.
15. Braden M, Wright PS, Parker S. Soft lining materials--a review. Eur J Prosthodont Restor Dent. 1995;3(4):163-74.
16. Murata H, Taguchi N, Hamada T, Kawamura M, McCabe JF. Dynamic viscoelasticity of soft liners and mastigatoy function. J Dent Res. 2002;81(2):123-8.
17. Meşe A, Güzel KG, Uysal E. Effect of storage duration on tensile bond strength of acrylic or silicone-based soft denture liners to a processed denture base polymer. Acta Odontol Scand. 2005;63(1):31-5.

18. McCabe JF. Soft lining materials: composition and structure. J Oral Rehabil. 1976;3(3):273-8.
19. McCabe JF. A polyvinylsiloxane denture soft lining material. J Dent. 1998;26(5-6):521-6.
20. Braden M. Tissue conditioners: I. Composition and structure. J Dent Res. 1970;49(1):145-8.
21. Gronet PM, Driscoll CF, Hondrum SO. Resiliency of surface-sealed temporary soft denture liners. J Prosthet Dent. 1997;77(4):370-4.
22. León BLT, Cury AADB, Garcia RCMR. Water sorption, solubility, and bond strength of resilient denture lining materials polymerized by different methods after cycling. J Prosthet Dent. 2005;93(3):282-7.
23. Bates JF, Smith DC. Evaluation of indirect resilient liners for dentures: laboratory and clinical tests. J Am Dent Assoc. 1965;70:344-53.
24. McCabe JF, Carrick TE, Kamohara H. Adhesive bond strength and compliance for denture soft lining materials. Biomaterials. 2002 Mar;23(5):1347-52.
25. Marchini L, Cunha VPP. Condicionadores de tecido: considerações sobre seu uso clínico. Odontol Ens Pesq. 1998;3(3):9-12.
26. Graham BS, Jones DW, Sutow EJ. Clinical implications of resilient denture lining material research. Part I: Flexibility and elasticity. J Prosthet Dent. 1989;62(4):421-8.
27. Garcia LT, Jones JD. Soft liners. Dent Clin North Am. 2004;48(3):709-20.
28. Craig RG, Gibbons P. Properties of resilient denture liners. J Am Dent Assoc. 1961;63:382-90.
29. Kawano F, Dootz ER, Koran A 3rd, Craig RG. Comparison of bond strength of six soft denture liners to denture base resin. J Prosthet Dent. 1992;68(2):368-71.
30. Radford DR, Watson TF, Walter JD, Challacombe SJ. The effects of surface machining on heat cured acrylic resin and two soft denture base materials: a scanning electron microscope and confocal microscope evaluation. J Prosthet Dent.1997;78(2):200-8.
31. Hekimoğlu C, Anil N. The effect of accelerated ageing on the mechanical properties of soft denture lining materials. J Oral Rehabil. 1999;26(9):745-8
32. Dootz ER, Koran A, Craig RG. Comparison of the physical properties of 11 soft denture liners. J Prosthet Dent. 1992;67(5):707-12.
33. Polyzois GL. Adhesion properties of resilient lining materials bonded to light-cured denture resins. J Prosthet Dent 1992; 68:854-8.
34. Sinobad D, Murphy WM, Huggett R, Brooks S. Bond strength and rupture properties of some soft denture liners. J Oral Rehabil. 1992;19(2):151-60.
35. Dootz ER, Koran A, Craig RG. Physical property comparision of 11 soft denture lining materials as a function of accelerated aging. J Prosthet Dent. 1993;69(1):114-9.

36. Pinto JR, Mesquita MF, Nóbilo MA, Henriques GE. Evaluation of varying amounts of thermal cycling on bond strength and permanent deformation of two resilient denture liners. J Prosthet Dent. 2004; 92: 288-93.
37. Graham BS, Jones DW, Thomson JP, Johnson JA. Clinical compliance of two resilient denture liners. J Oral Rehabil 1990;17:157-63.
38. Jepson NJ, McCabe JF, Storer R. Age changes in the viscoelasticity of a temporary soft lining material. J Dent 1993;21:244-7
39. Kazanji MNM, Watkinson AC. Soft lining materials: their absorption of, and solubility in, artificial saliva. Br Dent J. 1988;165:91-4.
40. Frisch J, Levin MP, Bhasker SN. Clinical study of fungal growth on tissue conditioners. J Am Dent Assoc. 1968;76:591-2.
41. Mendes B, Urban VM, Campanha NH, Jorge JH. Efeito da termociclagem sobre a rugosidade de reembasadores resilientes. Rev Odontol UNESP. 2010;39(4):213-8.
42. Yoeli Z, Miller V, Zeltser C. Consistency and softness of soft liners. J Prosthet Dent. 1996;75:412-8.
43. al-Athel MS, Jagger RG. Effect of test method on the Bond strenght of a silicone resilient denture lining material. J Prosthet Dent. 1996;76:535-40.
44. Kutay O, Bilgin T, Sakar O, Beyli M. Tensile bond strength of a soft lining with acrylic denture base resins. Eur J Prosthodont Restor Dent. 1994;2:123-6.
45. Sinobad D Murphy WM, Huggett R, Brooks S. Bond strength and rupture properties of some soft denture liners. J Oral Rehabil. 1992,19:151-60.
46. Emmer TJ Jr, Emmer TJ Sr, Vaidynathan TK. Bond Strength of permanent soft denture liners bonded to the denture base. J Prosthet Dent. 1995;74:595-601.
47. Sauve JL. A clinical evaluation of silastic 390 as lining material for dentures. J Prosthet dent. 1966;16:650-60.
48. Aydin AK, Terzioglu H, Akinay AE, Ulubayram K, Hasirci N. Bond strength and failure analysis of lining materials to denture resin. Dent Mater. 1999;15:211–8.
49. Baysan A, Parker S, Wright PS. Adhesion and tear energy of a long-term soft lining material activated by rapid microwave energy. J Prosthet Dent. 1998;79:182–7.
50. Kulak-Ozkan Y, Sertgoz A, Gedik H. Effect of thermocycling on tensile bond strength of six silicone-based, resilient denture liners. J Prosthet Dent. 2003;89:303-10.
51. Kutay O, Bilgin T, Sakar O, Beyli M. Tensile bond strength of a soft lining with acrylic denture base resins. Eur J Prosthodont Restor Dent. 1994;2:123–6.

52. Pinto JR, Mesquita MF, Henriques GE, de Arruda Nóbilo MA. Effect of thermocycling on bond strength and elasticity of 4 long-term soft denture liners. J Prosthet Dent. 2002;88:516-21.
53. Sertgoz A, Kulak Y, Gedik H, Taskonak B. The effect of thermocycling on peel strength of six soft lining materials. J Oral Rehabil. 2002;29:583–7.
54. Wright PS. Observations on long-term use of a soft-lining material for mandibular complete dentures. J Prosthet Dent. 1994;72:385–92.
55. Jagger RG, Al-Athel MS, Jagger DC, Vowles RW. Some variables influencing the bond strength between PMMA and a silicone denture lining material. Int J Prosthodont. 2002;15:55–8.
56. Mutluay MM, Ruyter IE. Evaluation of bond strength of soft relining materials to denture base polymers. Dent Mater. 2007;23(11):1373-81.
57. Sarac YS, Basoglu T, Ceylan GK, Sarac D, Yapici O. Effect of denture base surface pretreatment on microleakage of a silicone-based resilient liner. J Prosthet Dent. 2004;92:283–7.
58. McCarthy JA, Moser JB. Mechanical properties of tissue conditioners. Part I: Theoretical considerations, behavioral characteristics, and tensile properties. J Prosthet Dent. 1978;40(1):89-97.
59. Canay S, Hersek IT, Uzun G. Evaluation of colour and hardness changes of soft lining materials in food colorant solutions. J Oral Rehabil. 1999;26(1):821-9.
60. Casey DM, Scheer EC. Surface treatment of a temporary soft liner for increased longevity. J Prosthet Dent. 1993; 69(3): 318-34.
61. Hayakawa I, Keh ES, Morizawa M, Muraoka G, Hirano S. A new polyisoprenebased light-curing denture soft lining material. J Dent. 2003; 31(1): 269-74.
62. Park SK, Lee YK, Lim BS, Kim CW. Changes in properties of short-term-use soft liners after thermocycling. J Oral Rehabil. 2004;31(7):717-24.
63. Tay LY, Herrera DR, Quishida CC, Carlos IZ, Jorge JH. Effect of water storage and heat treatment on the cytotoxicity of soft liners. Gerodontology. 2011 Feb 1. doi: 10.1111/j.1741-2358.2011.00463.x. [Epub ahead of print]
64. Qudah S, Hugget R, Harrison A. The effect of thermocycling on the hardness of soft lining materials. Quintessence Int 1991; 22:575-80.

CAPÍTULO 2

Surface roughness of acrylic and silicone-based soft liners: *in vivo* study in a rat model

Running title: *In vivo* surface roughness of soft liners

Surface roughness of acrylic and silicone-based soft liners: *in vivo* study in a rat model

Running title: *In vivo* surface roughness of soft liners

Bail M [1], Jorge JH [2] , Urban VM [3], Campanha NH [3]

[1] PhD Student, Department of Dentistry, Ponta Grossa State University, Ponta Grossa, Paraná, Brazil.

[2] Assistant Professor, Department of Dental Materials and Prosthodontics, Araraquara Dental School, UNESP - Univ Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, Brazil.

[3] Assistant Professor, Department of Dentistry, Ponta Grossa State University, Ponta Grossa, Paraná, Brazil.

Corresponding author: Nara Hellen Campanha

Department of Dentistry, Ponta Grossa State University-UEPG

Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - CEP 84030-900

Ponta Grossa, Paraná, Brazil.

Phone: #55#042# 3220-3106

Fax: #55#042# 3220-3102

e-mail: narahell@yahoo.com.br

*texto formatado conforme as normas do periódico The Journal of Prosthodontics.

Abstract

Purpose: The aim of this *in vivo* animal study was to investigate changes in the surface roughness of soft liners over time. Materials and Methods: Forty adult Wistar rats (*Rattus norvergicus albinus*) were fitted with acrylic custom-made palatal plates relined by dynamic impressions and tested with the following soft liners: Dentuflex (DF), Trusoft (TS), Dentusoft (DS) and Ufi Gel P (UG). Half of the animals for each tested material had the plates fitted during the material reline procedure and their surface roughness was read at the immediate time (IRa group, n=5) The other half used the palatal plates for 14 days before roughness readings were performed (FRa group, n=5). The surface roughness (Ra) of the inner surface from the relined dentures was recorded using a Surftest SJ-401 with eight readings per specimen and the mean values were obtained. Data (µm) were analyzed by 2-way ANOVA and Tukey's test ($\alpha = 0.05$). Results: IRa means (2.92 ± 0.87 µm) and FRa means (3.35 ± 0.65 µm) were significantly different ($P = 0.016$). After 14 days (FRa) UG showed a lower ($P = 0.01$) Ra mean (2.1 ± 0.52 µm) than DF (3.94 ± 0.81 µm), TS (4.12 ± 0.64 µm) and DS (3.27 ± 0.64 µm). Conclusions: Dentuflex, Trusoft and Dentusoft all showed greater changes in their surface roughness after 14 days when compared to Ufi Gel P. The period of use resulted in changes in the surface roughness of the materials tested.

Index words: Denture, Complete; Palate; Polymers; Rats, Wistar.

.

Introduction

Resilient denture reline material has been developed in order to provide comfort for removable prosthesis wearers[1]. This may be more pronounced in the period immediately following surgery procedures, and in the presence of bony undercuts, thin atrophic mucosa or irregular bone resorption. Resilient liners are intended to be elastic to distribute forces, absorb energy, and prevent the incorrect transmission of forces onto the denture-bearing tissues, thus preventing masticatory pain by means of a cushioning effect.

Currently, relines can be classified based on their composition into two types: plasticized acrylic resins (e.g. Dentuflex, Dentusoft and Trusoft), and silicone-based materials (e.g. Ufi Gel P). Resilient reline materials are also classified as short or long-term products. According to ISO 10139-1[2] short-term liners, also denominated as ‒tissue conditioners‖ (e.g. Dentusoft) should be recommended for use for 30 days, and they are suitable for conditioning the fibromucosa after surgery. Long-term resilient liner denture materials (e.g. Dentuflex, Trusoft, Ufi Gel P) maintain their resilience for more than 30 days and can be used for up to one year[3]. Although these materials have been improved since their inception, studies have shown that there are still disadvantages in their performance[4-11].

The acrylic resin-based resilient materials indicated for chairside relining are mostly auto- polymerized materials which contain a liquid mixture of an aromatic ester and ethanol interfused with high polymers. The liquid mixture of these products also contains about 60% to 80% of plasticizer agents in order to increase flexibility and maintain their soft texture[12-15]. These acrylic resilient products have shown pronounced problems of longevity[11] and they become rigid due to water absorption and the leaching out of low molecular weight components[12-15].

On the contrary, silicon-based materials do not adhere perfectly to an acrylic denture base [8-16]. Additionally, the maintenance of their physical properties over time is a challenge. Both types of liners, but acrylic-based soft liners in particular, are unstable in aqueous solutions such as saliva and cleaning agents [17-19]. There is a particular concern about the surface roughness of denture material and its implications for both microbial colonization and difficulty in the maintenance of denture hygiene [19]. Therefore, the denture-fitting surface can act as a reservoir of microorganisms[20] and the use of removable dentures may be a predisposing factor for denture-related stomatitis[21].

In vitro studies have evaluated the surface roughness of resilient relining materials, showing an increase in their surface roughness after immersion in water [22-23]. Since *in vivo* studies provide vital information about dental materials and their behavior, the aim of the present study was to evaluate the changes in the surface roughness over time of one tissue conditioner Dentusoft (DS), two plasticized acrylic-based liners Trusoft (TS) and Dentuflex (DF), and one silicone-based liner Ufi Gel P (UG) at the immediate time and after 14 days of rebasing a heat-activated acrylic resin plate on the palate of Wistar rats.

Materials and Methods

Experimental design

Forty adult female Wistar rats (*Rattus norvergicus albinus*), aged sixty days, weighing 150 - 250 g were used for this study. The animals were maintained in separate cages at 23°C with 56% relative humidity, alternating light/dark cycles of 12 h. The animals were fed with water *ad libitum* and a nutritionally complete powdered feed (Nuvilab CR-1, Nuvital, Curitiba, Brazil). This study was approved in accordance with recommendations of the Ethics Committee on Animal Research at the Ponta Grossa State University (Protocol 12673/2010), and the guidelines on animal handling of COBEA (Brazilian College of Animal Experimentation) were followed.

One week prior to the impression stage, the animals started to receive a paste diet obtained from mixing the powdered diet with enough water to form a thick paste and the animals had free access to water for 12 h. They were anesthetized by the administration of a solution of ketamin (100 mg/mL) and xylasine (100 mg/mL) that was made by diluting 3.75 mL of ketamin plus 0.5 mL of xylasine in 5.75 mL of distilled water. Intraperitonial injection of 0.2 mL/100 g of this solution was used to sedate the rats, providing the working time of approximately 30 min for each procedure. A special support kept the animals' mouths open while they were anesthetized, allowing an appropriate position for the handling of the animals.

After obtaining the master impression (with the animals anesthetized) by using an addition silicone material (Futura, DFL, Rio de Janeiro, Brazil), a pattern of plates was waxed, covering the palate and the molars of the stone casts. Denture base acrylic resin Lucitone 550 (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brazil) was heat-polymerized according to the manufacturer's protocol. After polymerization, the flasks were bench cooled at room temperature for 30 min and 15 min under running water before the specimens were removed from the

flasks. The palatal plates were visually inspected to verify that they presented a smooth surface and showed no voids or porosity; otherwise, they were discarded. The edges of the denture base were also carefully finished to remove irregularities. Immediately after specimen fabrication, the plates of acrylic resin were stored in 50 mL of distilled water for 48 h at 37°C prior to insertion, in order to eliminate the possible effect of any residual monomer[24-25].

The compositions and batch numbers of the materials are summarized in Table 1. Two plasticized acrylic resin denture reline materials DF and TS, one tissue conditioner DS, and one silicone-based resilient denture reline material UG were selected. After the application of anesthesia, the acrylic palatal plates were then relined on each animal with one of the soft liners from dynamic impressions (n=5). All soft materials were prepared in accordance with the manufacturers' recommendations and the plates were placed on the palate with the respective reline material until its complete polymerization. After polymerization, excess material beyond the borders of the plate was carefully removed.

Half of the plates of each material tested were fitted during the material reline procedure in order to read the surface roughness at the immediate time (Ira group). The other half of the animals for each material used the palatal plates (Figure 1) for 14 days (FRa group). It was not possible to perform IRa and FRa on the same animals because of technical implications: the time elapsed between the procedures for relining of palatal appliances and the roughness reading is superior to the time provided by the anesthesia. In order to promote a mechanical retention and to fix the palatal plate, a groove in the molar coverage region was made using a spherical bur #6. Composite filling material (Opallis, FGM, SC, Joinville, Brazil) was used to fix the devices[26] by filling the molar region groove. The composite provided only a mechanical retention to the molars, as an adhesive system was not applied. The animals of the FRa group were kept on a paste diet and on the fourteenth day, they were anesthetized for the removal of the palatal plates. The palatal plates were then cleaned by ultrasonic bath for 10 min and then again in running water.

Surface roughness analysis

A roughness tester (Surftest SJ-401, Mitutoyo Sul Americana Ltda, Santo Amaro, SP, Brazil) was calibrated at sample length of 0.25 mm and accuracy of 0.01 mm (ABNT - NBR ISO 4287). Surface roughness readings were carried out at 23°C under dry conditions.

The surfaces of the palatal contact areas of each acrylic device were divided into two parts (anterior and posterior), and four roughness measurements were made within each predetermined area, making a total of eight measurements (Figure 2). From the partial means, a final roughness mean value was calculated for each acrylic device. The Ra parameter (μm) was chosen to provide conditions for comparison with the results of other studies, reflecting the value of the arithmetic mean of all absolute distances of the roughness profile [27-28]. To ensure that all measurements were made in the same spot, they were fixed in modelling putty; the four parts were marked onto the palatal surface of each device with a pencil and the acrylic devices were kept at a parallel plan with the needle length. Immediate surface roughness (IRa) and final surface roughness (FRa- after 14 days) were recorded [13,29,30].

Statistical analysis

Post hoc power analysis was performed for the statistical analysis of surface roughness data using G*Power 3.1 software (Franz Faul, Universitat Kiel, Germany) [31]. Data were subjected to 2-way ANOVA followed by Tukey's test (α=0.05).

Results

For the number of specimens used (n=5), the study was adequately powered for both the factors ―material‖ and ―period of use‖ (over 95%; α=0.05), regarding surface roughness analysis. ANOVA results indicate significant differences between the evaluated periods (P = 0.016) regardless material, and among materials (P = 0.0001) regardless the evaluated periods. Figure 3 illustrates the significant difference of the surface roughness means Ra (μm) when comparing the periods of use IRa and FRa.

Tukey's test indicates that there was no significant difference ($P \geq 0.05$) in the surface roughness means between Dentuflex and Dentusoft, as illustrated in Figure 4. In the same picture it can be seen that Trusoft was rougher than Dentusoft and that Ufi Gel P was the smoothest material among all studied. UG presented the lowest ($P < 0.05$) roughness mean value (2.1 ± 0.52 μm) after the 14 days period of use of all the materials that were tested.

Discussion

Denture materials are constantly subjected to changes in the moist environment of the oral cavity, and this may cause changes in their properties [18]. Williams and Lewis[32] concluded that the surface roughness in denture base indirectly contributes to tissue injury. This means that the greater the surface roughness, the greater the surface irregularities, staining, deposition of calculus and bacterial adhesion[33-35], which may affect, directly or indirectly, the health of oral tissues, and consequently decrease the longevity of resilient relining[11].

This study proposed to evaluate the surface integrity by measuring the surface roughness of resilient denture liners *in vivo*, after fitting appliances to the palate of female Wistar rats. The loss of surface integrity and smoothness of temporary soft lining materials was demonstrated to occur over the first seven days after application[13]. However, Hong et al.[29] observed that the values of Ra significantly increased after 14 days of immersion. The observation time of the present study was based on the study by Barclay et al.[30], which found 14 days to be a safe period for using palatal plates, without compromising the nutrition of the animals. In the present *in vivo* study, all the auto-polymerizable materials that were tested showed a similar surface roughness immediately after the relining procedure (IRa) that exceeded the parameter considered to be clinically ideal of 0.2 μm[33]. In a review of surface roughness of dental materials, a threshold of 0.2 μm was suggested as the roughness limit, below which no additional reduction in the retention of bacteria can be expected [34]. Despite the differences in the sample setting between other *in vitro* tests and the present study, the roughness tester (Surftest SJ-401) was calibrated so as not to consider the valleys and peaks of the sample in accordance with the tester's manufacturer. This does not preclude the comparison with the results of other studies using planned samples, polymerized on acetate sheet and glass slab. The Ra mean obtained here was similar. Zissis et al.[28] evaluated the roughness of resilient materials *in vitro* and found Ra values ranging from 3.2 μm to 4.0 μm without the application of a sealant surface, and from 2.8 μm to 4.1 μm with the application of a surface sealant. Machado et al. [22] found the material Trusoft to be the roughest material in their study, with mean results at baseline of 3.54 μm. In the present study, initial mean roughness of 3.35 μm was found for the same material.

In vivo studies have the advantage that the palate of the animal reproduces the biological features of the mucosa of humans, and the materials tested in the present study were used in a similar way to a clinical situation. The anatomy of the palate could have some influence on the surface roughness as has been speculated in the literature[27]. According to Loney et al., [27] the surface in contact with a substrate tends to reproduce its

properties rather than the surface feature of the material. In this present *in vivo* study, the polymerization of the lining materials was obtained similarly to the setting of an impression material directly in contact with the substrate of the palatine mucosa. Thus, the whole anatomy was reproduced after polymerization was completed in the presence of saliva, thermal changes, tissue irregularities and microbiological factors, while in *in vitro* studies the materials usually have their setting in contact with an acetate sheet and glass slab [22,28]. In addition, this method of fixing palatal devices did not induce a decline in the animals' weights for any group, which made the study feasible for biocompatibility and microbiological studies of materials for denture bases and relining.

It was observed that the period of use resulted in changes in the surface roughness of the materials. Consequently, based on the evidence of this study, the period of usage of 14 days was observed to change the initial surface integrity *in vivo* for the tested period (14 days). Conversely, Machado et al.[22] observed a decrease in the surface roughness of some soft liner materials when immersed in water for 4 weeks and the differences compared to the initial roughness mean value (baseline reading) were more pronounced after longer immersion periods. However, the results of the present study indicate that the *in situ* surface degradation of these materials already occurs within the 14 day period.

In terms of differences in the results related to the materials, after the 14 day period of use, differences were observed in the roughness values among the materials tested. The silicone-based reline material UG showed lower roughness than the acrylic-based reline materials that were tested. The tissue conditioner DS was not statistically different when compared to the acrylic-based materials DF and TS presented in this study. The distinct composition and the hydrophilic character of the material[36] might be considered as possible explanations for diverse surface features in the long-term among the materials tested. Acrylic-based denture relines are mostly auto-polymerized materials, composed of phthalates, interfused in high polymers and a liquid mixture of an aromatic ester and ethanol. The addition of phthalates is designed to enhance working properties and flexibility[37]. Phthalates and ethanol are low molecular weight components which remain unreacted and trapped in the polymer network and they are prone to leaching onto a moist environment, such as saliva[38]. Moreover, leached plasticizer has been reported to accelerate the deterioration process of acrylic denture base materials[39]. This does not occur in silicones because materials based on dimethylsiloxane are more hydrophobic and only a small amount of water absorption and degradation occurs[36].

When the plates were fitted to the palates of the rats, the soft liners were under the effect of the tissue-bearing and mechanical attrition of residual food against the plate-mucosa surface. Consequently, this present study may not be fully extrapolated to the clinical situation since it did not demonstrate all the clinical conditions, as no cleansing methods for the hygiene of the plates were made. The mechanical abrasion caused by brushing denture base and reline materials may result in mass loss, surface changes[40] and difficulty in the maintenance of acrylic denture hygiene[19]. Brozek et al.[15] have demonstrated the properties of resilient denture liners affected by cleansing agents. Therefore, one may expect some disparity between the results of animal models and clinical trials because these do not sufficiently reflect routine procedures in humans. Hence, further long-term *in vivo* studies about the properties of resilient denture liners are required to assess the biofilm and the effect of routine cleaning methods on such materials.

Conclusion

Within the limitations of this *in vivo* study, the following conclusions can be drawn:

1. The surface roughness means of Dentuflex and Dentusoft was similar.
2. Trusoft was rougher than Dentusoft.
3. Ufi Gel P was the smoothest material among all studied.
4. The period of use (14 days) resulted in changes in the mean surface roughness of the group of materials tested.

Acknowledgements

This investigation was supported by the ARAUCARIA FOUNDATION, Paraná State, Brazil (Grant 11386). The authors gratefully acknowledge the support given by Ms. Lissandra Matos Brol.

References

1. Wright PS. The success and failure of denture soft lining materials in clinical use. J Dent 1984;12:319-327
2. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO. 10139-1. Dentistry-resilient lining materials for removable dentures part 1: short-term materials. 1st ed. December 1,1991

3. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO/FDIS 10139-2. Dentistry-soft lining materials for removable dentures part 2: materials for long-term use. 10139-2:1999
4. Craig RG, Gibbons P. Properties of resilient denture liners. J Am Dent Assoc. 1961;63:382-390
5. Kawano F, Kon M, Koran A, et al: Shock-absorbing behavior of four processed soft denture liners. J Prosthet Dent. 1994;72:599-605
6. Gronet PM, Driscoll CF, Hondrum SO. Resiliency of surface-sealed temporary soft denture liners. J Prosthet Dent. 1997;77:370-374
7. Hekimoglu C, Anil N. The effect of accelerated ageing on the mechanical properties of soft denture lining materials. J Oral Rehabil. 1999;26:745-748
8. Polyzois GL. Adhesion properties of resilient lining materials bonded to light-cured denture resins. J Prosthet Dent. 1992;68:854-858
9. Radford DR, Watson TF, Walter JD, et al: The effects of surface machining on heat cured acrylic resin and two soft denture base materials: a scanning electron microscope and confocal microscope evaluation. J Prosthet Dent. 1997;78:200-208
10. Sinobad D, Murphy WM, Huggett R, et al: Bond strength and rupture properties of some soft denture liners. J Oral Rehabil. 1992;19:151-160
11. Casey DM, Scheer EC. Surface treatment of a temporary soft liner for increased longevity. J Prosthet Dent. 1993;69:318-334
12. Kazanji MN, Watkinson AC. Soft lining materials: their absorption of, and solubility in, artificial saliva. Br Dent J 1988;165:91-94
13. Murata H, McCabe JF, Jepson NJ, et al: The influence of immersion solutions on the viscoelasticity of temporary soft lining materials. Dent Mater 1996;12:19-24
14. Murata H, Chimori H, Hong G, et al: Compatibility of tissue conditioners and denture cleansers: influence on surface conditions. Dent Mater J 2010;29:446-453
15. Brożek R, Koczorowski R, Rogalewicz R, et al: Effect of denture cleansers on chemical and mechanical behavior of selected soft lining materials. Dent Mater 2011;27:281-290
16. Dootz ER, Koran A, Craig RG. Comparison of the physical properties of 11 soft denture liners. J Prosthet Dent 1992;67:707-712
17. Graham BS, Jones DW, Thomson JP, et al: Clinical compliance of two resilient denture liners. J Oral Rehabil 1990;17:157-163
18. Jepson NJ, McCabe JF, Storer R. Age changes in the viscoelasticity of a temporary soft lining material. J Dent 1993;21:244-247
19. Taylor RL, Bulad K, Verran J, et al: Colonization and deterioration of soft denture lining materials in vivo. Eur J Prosthodont Restor Dent 2008;16:50-55
20. Brosky ME, Pesun IJ, Morrison B, et al: Clinical evaluation of resilient denture liners. Part 2: Candida count and speciation. J Prosthodont 2003;12:162-167
21. Dar Odeh NS, Shehabi AA. Oral candidosis in patients with removable dentures. Mycoses 2003;46:187-191

22. Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE, et al: Changes in roughness of denture base and reline materials by chemical disinfection or microwave irradiation: surface roughness of denture base and reline materials. J Appl Oral Sci 2011;19:521-528
23. Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, et al: Surface roughness of denture base and reline materials after disinfection by immersion in chlorhexidine or microwave irradiation. Gerodontology 2012;29: e375-382
24. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Specification 1567: denture base polymers. 2nd ed. Switzerland: ISO, 1998
25. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, et al: Effect of microwave postpolymerization treatment and of storage time in water on the cytotoxicity of denture base and reline acrylic resins. Quintessence Int 2009;40:e93-100
26. Francis CA, Farthing PM. The response of Langerhans cells to palatal cover plates in the rat. Avchs Oral Viol 1989;34:377-381
27. Loney RW, Price RBT, Murphy DG. The Effect of Polishing on Surface Roughness of Tissue Conditioners. Int J Prosthodont 2000;13:209-213
28. Zissis AJ, Polyzois GL, Yannikakis SA, et al: Roughness of denture materials: a comparative study. Int J Prosthodont 2000;13:136-140
29. Hong G, Li Y, Maeda T, et al: Influence of storage methods on the surface roughness of tissue conditioners. Dent Mater J. 2008;27:153-158
30. Barclay SC, MacDonald DG, Watson LB. The effect of diet on palatal prosthetic coverage in rats. Journal of Dentistry. 1995;25:71-77
31. Faul F, Erdfelder E, Buchner A, et al: Statistical power analyses using G*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. Behav Res Methods 2009;41:1149-1160
32. Williams DW, Lewis MA. Isolation and identification of Candida from the oral cavity. Oral Dis 2000;6:3-11. Review
33. Quirynen M, Marechal M, Busscher HJ, et al: The influence of surface-free energy and surface roughness on early plaque formation. An in vivo study in man. Journal of Clinical Periodontology 1990;17:138-144
34. Bollen CML, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. Dental Materials 1997;13:258-259
35. Nikawa H, Yamamoto T, Hayashi S, et al: Growth and⁄or acid production of Candida albicans on soft lining materials in vitro. J Oral Rehab 1994;21:585-594
36. Mancuso DN, Goiato MC, Zuccolotti BC, et al: Effect of thermocycling on hardness, absorption, solubility and colour change of soft liners. Gerodontology 2012;29:e215-219
37. Sofou A, Tsoupi I, Emmanouil J, et al: HPLC determination of residual monomers released from heat-cured acrylic resins. Anal Bioanal Chem 2005;381:1336-1346

38. Munksgaard EC. Leaching of plasticizers from temporary denture soft lining materials. Eur J Oral Sci 2004;112:101–104
39. Murata H, Toki K, Hong G, et al: Effect of tissue conditioners on the dynamic viscoelastic properties of a heat-polymerized denture base. J Prosthet Dent 2002;88:409-414
40. Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE, et al: Weight loss and changes in surface roughness of denture base and reline materials after simulated toothbrushing in vitro. Gerodontology 2012;29:e121-127

Table 1. Materials chosen for this study

Material	Code	Manufacturer	Powder/ liquid ratio	Composition	Type and curing	Batch number
Dentuflex	DF	Densell, Buenos Aires, Argentina	2 g / 1 mL	Powder: Polyethyl methacrylate, benzoyl peroxide Liquid: N-butyl methacrylate, dibutyl phthalate, trimethylol propane, dimethyl-p-toluidine	Auto-polymerized plasticized acrylic denture reline material	HL0645
Trusoft	TS	Bosworth Co., Skokie, IL, USA	1.06 g / 1 mL	Powder: Polyethyl methacrylate, cadmium pigments Liquid: Ethyl alcohol, dibutyl phthalate	Auto-polymerized plasticized acrylic denture reline material	1007-333
Dentusoft	DS	Densell, Buenos Aires, Argentina	2 g / 1 mL	Powder: Polyethyl methacrylate, benzoyl peroxide, titanium oxide Liquid: Dibutyl phthalate, alcohol	Auto-polymerized plasticized acrylic tissue conditioner	IB0083
Ufi Gel P	UP	Voco GmbH, Cuxhaven, Germany	1:1 (volume ratio base/catalyst)	Modified polydimethyl siloxane and platinum catalyst	Auto-polymerized silicone-based denture reline material	1118379
Lucitone 550	L	Dentsply, Petrópolis, RJ, Brazil	2.1 g / 1 mL	Powder: Polymethyl methacrylate Liquid: Methyl methacrylate and ethylene glycol dimethacrylate	Thermopolymerized denture base acrylic resin	266775C

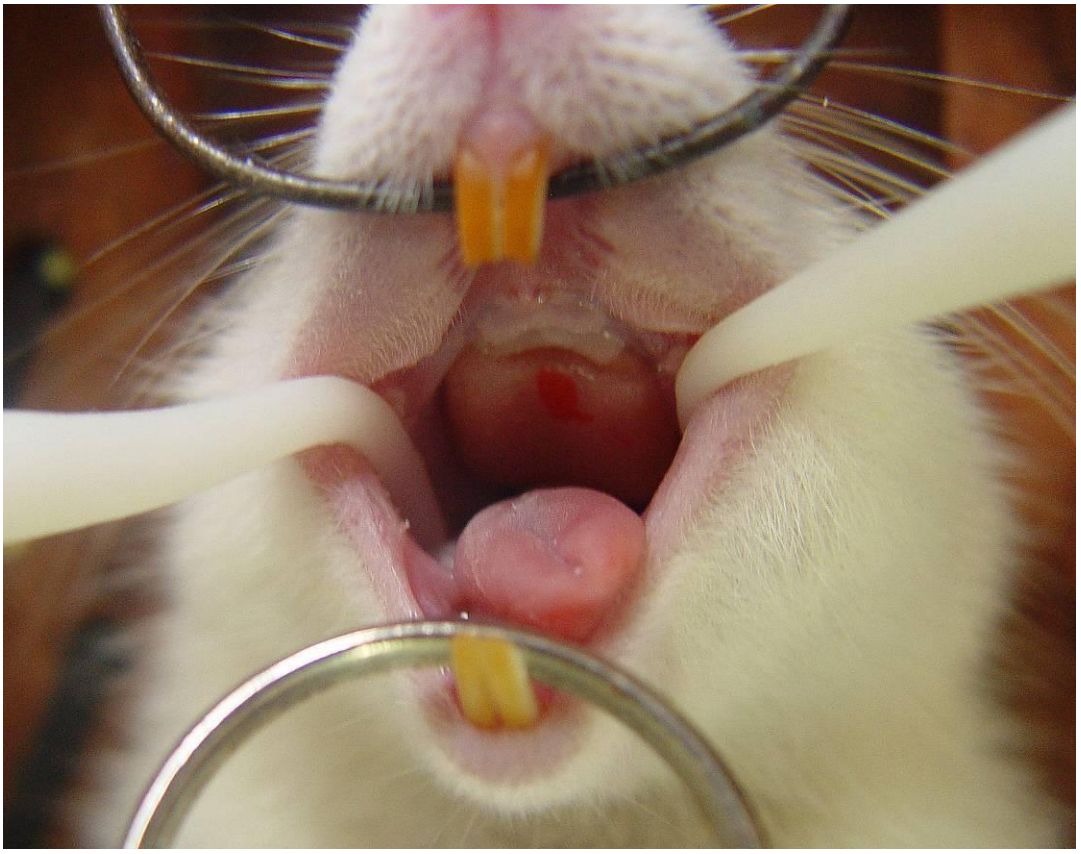


Figure 1- Palatal plate *in situ* in a Wistar rat.

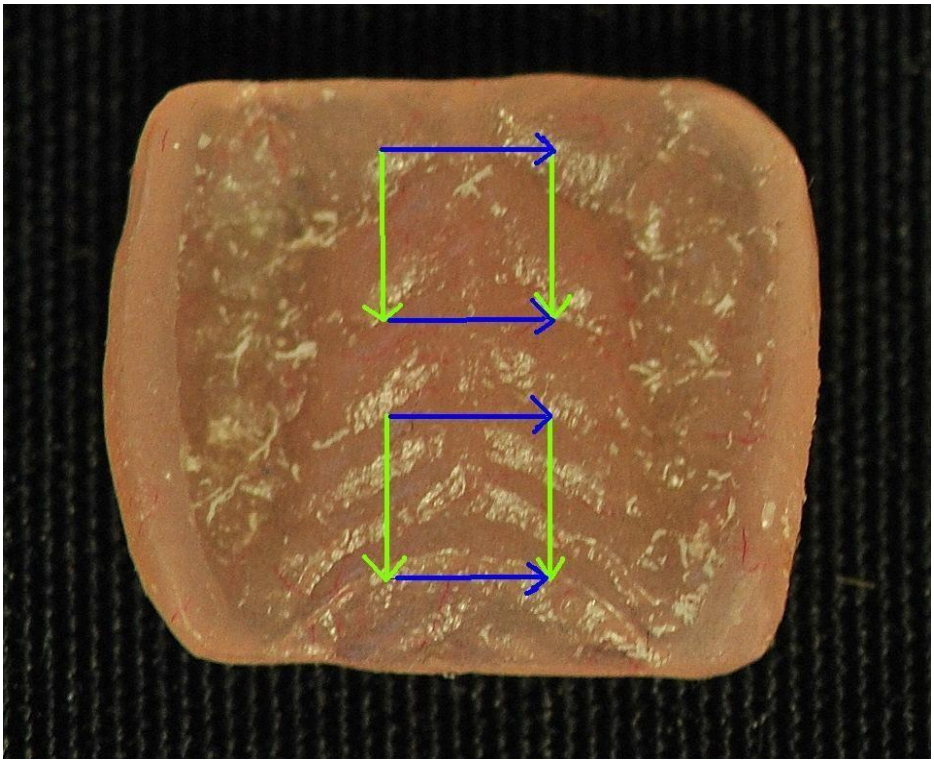


Figure 2- Roughness measurements design. Arrows indicate the reading orientations.

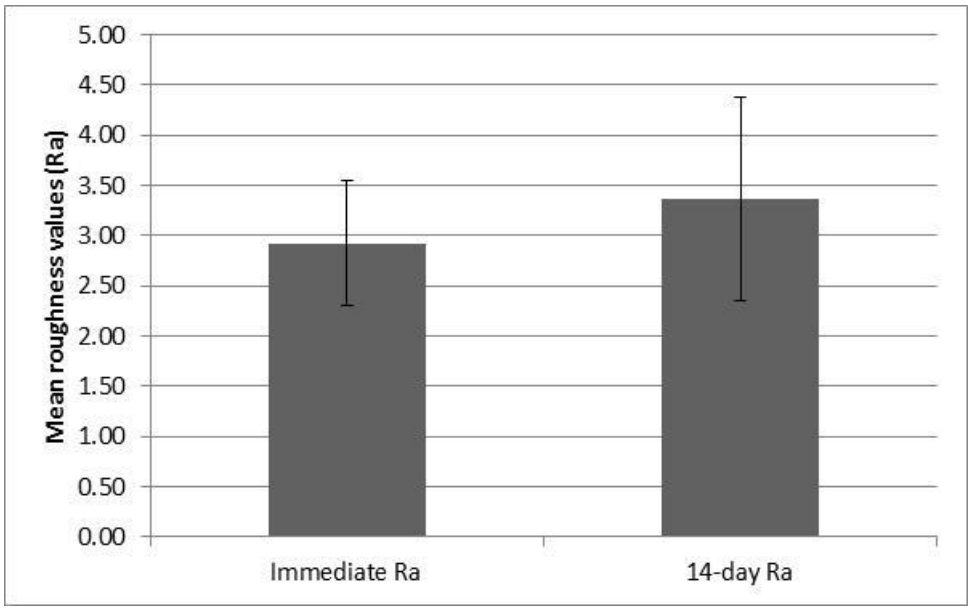


Figure 3- ANOVA statistical difference of the surface roughness means Ra (µm) when comparing the immediate and after 14 days period of use. Vertical bars represent standard deviation.

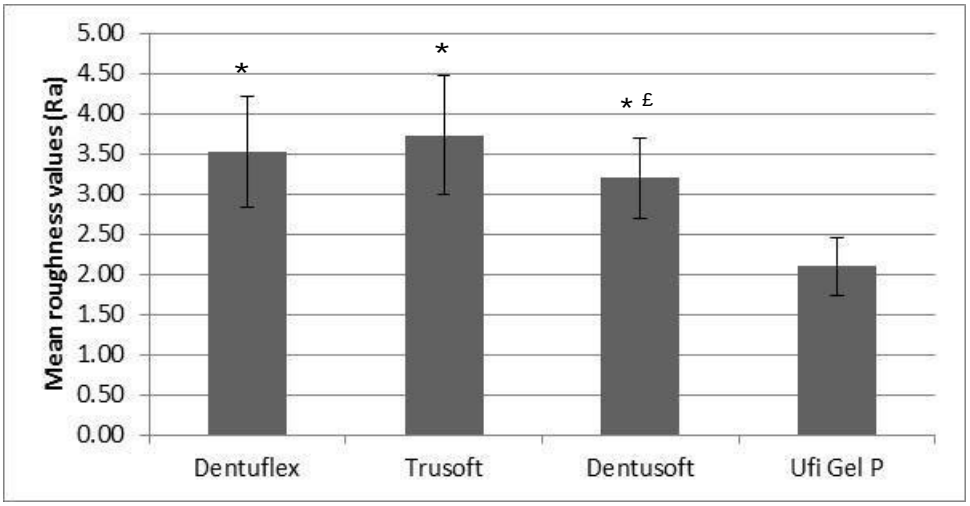


Figure 4- Surface roughness means (Ra) for all materials tested, regardless time of observation. * = statistically different from Ufi Gel P; £ = statistically different from Trusoft (Tukey test, $P < 0.05$). Vertical bars represent standard deviation.

CAPÍTULO 3

"Morpho-histometry changes by the use of resilient relining materials – a rat model study"

Morpho-histometric changes by the use of resilient relining materials – a rat model study

Bail M[1] , Meister LMB[1], Campagnoli EB[2] , Jorge JH[3], Ban MI[4] ,Sánchez-Ayala A[2], Campanha NH[2]

[1]PhD Student, Department of Dentistry, State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, Parana, Brazil.

[2]Professor, Department of Dentistry, State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, Parana, Brazil.

[3]Professor, Department of Dental Materials and Prosthodontics, Araraquara Dental School, Paulista State University, Araraquara, São Paulo, Brazil.

[4]Undergraduate Student, Department of Dentistry, State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, Parana, Brazil.

Corresponding author:

Michele Bail

Avenida General Carlos Cavalcanti n° 4748, CEP: 84030-900

Bloco M, Campus Uvaranas, Department of Dentistry, State University of Ponta Grossa

Ponta Grossa, Paraná, Brazil

Phone: +55-42-32223404, Fax: +55-42-3222-3404

E-mail: odontobail@gmail.com

---

*texto formatado conforme as normas do periódico International Journal of Prosthodontics.

Abstract

Aim: To assess the morpho-histometric features of rat palatal mucosa exposed to resilient relining materials. Methods: Forty-five adult female Wistar rats with controlled living conditions and fed *ad libitum* were employed. Palatal appliances of heat-polymerized acrylic resin Lucitone 550 were manufactured and worn by forty animals during 14 days. Five animals did not use the appliances (G1) and were used to control the appliance influence. One experimental group (n=10) used the appliances without any relining material (G2) to control the material effect. Three experimental groups (n=10) received the following resilient relining materials below appliances: Dentusoft (G3), Dentuflex (G4), and Trusoft (G5). Appliances from half of each experimental group (n=5) was immersed in water bath at 55°C for 10 min before use. Animals were slaughtered and the palates were fixed in 10% buffered formalin. Hematoxylin and eosin stained sections of 5 µm were analyzed by computerized planimetry. Cellular compartment, keratin and total epithelial thickness, and basal layer interface length were measured to morpho-histometric description. Analysis of variance and Tukey post-hoc test were used to data examination (α=0.05). Results: For heat-treatment groups, G4 showed less elongated ridges at the basal layer interface (p=0.037) than G2. When comparing the conditions with and without heat-treatment, only G2 showed a significant decrease in the cellular compartment, keratin layer and total epithelium thickness (p<0.05). Conclusion: Heat-treatment was effective to avoid morpho-histometric changes when any relining material was used. After appliance heat-treatment, Dentuflex showed reduced basal membrane interface ridges when it compared to Lucitone 550.

Key-words: Denture, Complete; Materials Testing; Palate; Polymers; Rats, Wistar.

Introduction

Relining materials were thought to decrease traumas caused by the hard denture bases on the oral mucosa during chewing or parafunctional movements [1]. Resilient liners are also recommended to fibromucosous tissue conditioning, denture stabilizing and ridge healing after surgery, or as a temporary base material during the osseointegration of dental implants, and several procedures to implant-retained overdentures holding[2-6]. Relining materials may be classified based on time of use as temporary and permanent. They may also be divided according to their composition in: acrylic-based or silicone-based materials[1,6].

The acrylic-based resilient lining materials recommended for chairside relining technique are mostly auto-polymerized materials comprising a liquid mixture of an aromatic ester and ethanol interfused with high polymers[7]. The addition of phthalates is aimed at increasing flexibility, extensibility and to enhance working properties[6-8]. Although low or no toxicity related to these compounds has been reported, they possess phthalates, potentially toxic compounds which may promote undesirable biological effects[10] such as reducing male fertility[11], functioning as xenoestrogens[12-13] inducing hormonal tumors, and causing fetal malformations [14-15].

There is higher residual monomer in auto-polymerizing acrylic-based materials [16-17-19] caused by the low degree of conversion achieved by the use of chemical activator[17]. Free radical polymerization reaction does not result in complete conversion of all carbon–carbon double bonds and therefore, acrylic resins are known to contain and release unpolymerized monomers[7,20]. The leachability of plasticizers (such as phthalates) released in water[21-22] and residual monomer may also induce a direct cytotoxic effect on cells[23-26]. Toxic compounds may be released into the patient's mouth during the polymerization of resilient liner materials

in contact with the oral mucosa in the chairside relining procedure. Consequently, reactions of the oral mucosa to acrylic materials, such as –burning mouth sensation‖[27], redness, swelling and pain in the oral mucosa[28], have been described. Moreover, a clinical case was reported as being the first case of isolated systemic allergic reaction caused by acrylic-based materials [29]. Possibly these reactions were produced by the release of unpolymerized monomers [7-20].

Post-polymerization heat treatment has been shown to be an effective method in reducing the amount of residual monomers emanating from acrylic resins[19,30]. This reduction of residual monomers could, in theory, decrease the release of toxic residual denture reline materials, and consequently decrease the potential to cause irritation, allergic response and symptoms due to the previous elimination of these substances. Two studies in the literature demonstrated a reduction in the cytotoxicity of acrylic resin for denture base when a post-polymerization heat treatment at 55° C for 60 min was applied[31], and also the cytotoxicity of a hard lining material decreased when applying a post-polymerization heat treatment at 55° C for 10 minutes[24].

There are few current studies that have evaluated resilient relining materials with different compositions and their effects on the epithelium[32]. It has been observed that relining with either a soft or a hard relining material gave an increased thickness of keratin, and it was supposed that relining may have had an effect on the rate of transition of cells through the epithelium, with a more rapid formation of keratin[32]. Barclay et al.[32] encountered problems in fixing palatal appliances to the incisor teeth with relining materials and they reported a failure rate of 65% percent of the appliances, mostly within 24 h of their fixing stage. Based on the literature report, our group used a new rat model to fix acrylic resin plates (in press). The aim of this work was to assess histopathologic changes using resilient chairside denture lining materials, with and without post–polymerization heat treatment. The null hypothesis was that

the water bath post-polymerization treatment of denture base and lining resins would not affect the morpho-histometric aspect of the rat palatal mucosa.

Material and Methods

Experimental design

Experimental groups and materials are presented in Table 1. Forty five adult female rats (*Rattus norvegicus albinus,* wistar), aged sixty days, and weighing approximately 200 g were used in this study. The animals were used for histopatological analysis (n = 5). The animals were maintained in separate cages at 23°C with 56% relative humidity, alternating light/dark cycles of 12 h. The animals were fed *ad libitum* with water and a nutritionally complete powdered feed (Nuvilab CR-1, Nuvital, PR, Curitiba, Brazil). This study was approved in accordance with the recommendations of the Ethics Committee on Animal Research of Ponta Grossa State University (Protocol 12673/2010). The guidelines on animal handling of the COBEA (Brazilian College of Animal Experimentation) were also followed.

Acrylic plate preparation

One week prior to the impression stage, the animals started to receive a paste diet obtained from mixing the powdered diet with enough water to form a thick paste. They had free access to water for 12 h before the experimental procedures. They were anesthetized by the administration of a solution of ketamin (100 mg/mL) and xylasine (100 mg/mL) that was made by diluting 3.75 mL of ketamin plus 0.5 mL of xylasine in 5.75 mL of distilled water. Intraperitonial injection of 0.2 mL/100 g of this solution was used to sedate the rats, providing

the working time of approximately 30 min for procedures. A special support kept the animals' mouths open while they were anesthetized, allowing an appropriate position for the handling of the animals.

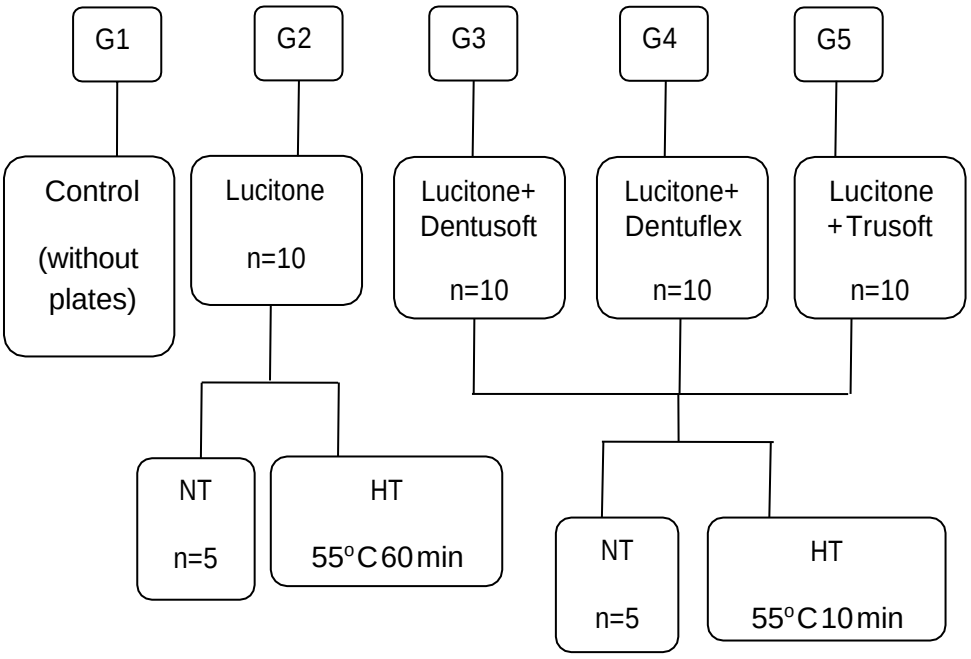
After sedation, each rat was weighed (w^i) using an analytical balance (Gehaka, Ind. e Com. Eletro, Eletrônica Gehaka Ltda, São Paulo, Brazil). After obtaining the master impression by using an addition silicone material (Futura, DFL, RJ, Rio de Janeiro, Brazil), a pattern of plates was waxed, covering the palate and the molars of the stone casts. The casts with wax patterns in position were conventionally included and the denture base acrylic resin Lucitone 550 (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brazil) was heat-polymerized according to the manufacturer's protocol. After polymerization, the flasks were bench cooled at room temperature for 30 min and 15 min under running water before the specimens were removed. The palatal plates were visually inspected to verify that they presented a smooth surface and showed no voids or porosity; otherwise, they were discarded. The edges of the denture base were also carefully finished to remove irregularities. Immediately after specimen fabrication, the plates of acrylic resin were stored in 50 mL of distilled water for 48 h at 37° C prior to insertion, in order to eliminate the possible effects of any residual monomer[33-34].

Palatal plate relining and fixing.

The acrylic plates of the groups G2, G3, G4 and G5 were relined with the materials tested (Figure 1)

.

Figure 1- Diagram representation of the experimental groups. NT: no treatment; HT: with heat-treatment+



The composition and batch number of the materials are summarized in Table 1.

Table 1- Denture materials selected for the study.

Material	Code	Manufacter	Powder/ liquid ratio	Composition	Type and curing	Batch Number
Lucitone 550	L	Dentisply- Indústria e comércio Ltda, Petrópolis,Brazil	2.1g /1mL	Powder – PMMA Liquid – MMA and EDGMA	Termopolymerized hard acrylic resin	266775C
Dentusoft (Tissue conditioner)	DS	Densell, Buenos Aires, Argentina	2 g /1 mL	Powder: Polietil methacrylate, benzoylperoxide, titanium oxide. Liquid: Dibutyl phthalate, alcohol.	Auto-polimerized plasticized acrylic	IB0083
Dentuflex	DF	Densell, Buenos Aires, Argentina	2 g /1 mL	Powder: Polietil methacrylate, benzoyl peroxide Liquid: N-Butyl methacrylate, Dibutyl phthalate, Trimethylolpropane, Dimethyl-p-toluidine	Auto-polimerized plasticized acrylic	HL0645
Trusoft	TS	The Bosworth Co., Skokie,, USA	1.06 g /1 mL	Powder: Polietil methacrylate, cadmium pigments Liquid: Ethyl alcohol, dibutyl phthalate	Auto-polimerized plasticized acrylic	1007-333

The acrylic custom-made palatal plates (Lucitone 550) were relined with the resilient liners of each group from dynamic impressions (n=10). Half of the animals of each experimental group (n=5) were installed without post-polymerization treatment (NT), and the other groups were immersed in water-bath (HT) at 55° C for 10 minutes (G3, G4, G5; n=5) or for 60 minutes (G2; n=5) before the fixing stage. All soft materials were prepared in accordance with the manufacturers' recommendations, and the plates were placed on the palate with the respective material mixture until its complete polymerization. After polymerization, excess material beyond the borders of the plate was carefully removed. In order to promote a mechanical retention and fixing of the palatal plate, a groove in the molar coverage region was made using a spherical bur #6. Composite filling material (Opallis, FGM, Joinville, SC, Brazil) was used to fix the devices[34] by filling the molar region groove. The composite provided only a mechanical retention to the molars, since no adhesive system was applied. The animals used the palatal plates for 14 days and were kept on a paste diet.

Histology and morphological quantitative analysis.

After 14 days, the animals were weighed (w^f) and killed according to the standards of the Brazilian Society of Laboratory Animal Science (SBCAL-COBEA). Acrylic palatal-plates were removed, and the palates were dissected from the heads and fixed in 10% buffered formalin for a minimum of 24 h, and a maximum of 48 h. The blocks were demineralized in 4.13% EDTA and then were cut in the sagittal plane posterior to the molars. The blocks were processed and paraffin embedded for sections to be cut from the posterior side of each block. Sections of 5 µm (Leica, Berlin, Germany) were stained with haematoxylin and eosin (HE). Slides were mounted and observed by light microscopy (Nikon – model YS 100, Tokyo - Japan). Two standardized photos (200 x) of two histological fields were selected: the field of the epithelium overlying the palatal blood vessels (L), and the field

at the midline palatine raphe (M). Tissue reactions such as inflammatory infiltrate, fibroblast proliferation, and vascular changes were assessed in the stained sections (HE). Changes in epithelial tissue morphology were assessed by computerized planimetry using the software Image Pro Plus, Version 4.5.0.29 (Media Cybernetics, Inc, Bethesda, USA). Within each field, the length of the basal layer interface (BL) was measured in micrometers. In addition, keratinized compartment (KC) and cellular compartment (CC) were measured using a standardized grid of 10 horizontal lines, which gave a mean of 10 measurements of each photo. The addition of the keratinized compartment value (KC) to the cellular compartment value (CC) resulted in the total epithelium mean (TE).

Statistical analysis

All data were analyzed using IBM® SPSS® Statistics 20 software. The weight of the animals (both initially and prior to killing) was contrasted using Wilcoxon signed-rank sum test. As regards to histology and morphological quantitative analysis, measurements of the two analyzed regions were averaged to each variable as a method of improving the consistency of the means. Normality of residuals and homogeneity of variances were examined by Shapiro-Wilk and Levene's tests, respectively. One-way analysis of variance and Tukey's post-hoc tests were used to compare the biocompatibility of resilient lining materials according to cellular compartment, keratin thickness, epithelial surface length and epithelium morphology values, and basal layer interface length results after base-10 logarithmic transformation. This procedure was also applied to the analysis of resilient lining materials after post-polymerization treatment regarding cellular compartment, basal layer interface length, and total epithelial thickness data. Variables presenting heteroscedasticity and non-normal distribution were studied employing one-way analysis of variance and non-parametric multiple comparisons tests. Student's t-test was used to compare values from

resilient lining materials with and without post-polymerization treatment for all variables. All statistical inferences were performed with two-tailed trials assuming a 5% significance level.

Results

During the experiment four animals, two of them from the G4 group and one from the G4 and G3 groups respectively, had premature plate loss. Moreover, there were three anesthetic-related deaths among all female adult rats used in this study. These animals were immediately substituted in order to keep the number of samples (n) in each group. Weights were recorded throughout the experiment, one week after the animals commenced the paste diet (w^i) and 14 days after the fitting of appliances (w^f). The mean weights are demonstrated in Table 2.

Table 2- Mean ± standard deviation (g) of animal weights (n = 5).

Resilient lining material	Initially(wi)	Previously to sacrifice (wf)	P
Control	211.00 ±15.166b	230.60 ±8.62a	0.043
Lucitone	220.00 ±12.25b	209.20 ±17.21b	0.138
Dentusoft	182.20 ±14.72b	181.20 ±40.29b	0.686
Dentuflex	193.20 ±12.48b	184.80 ±23.64b	0.500
Trusoft	194.00 ±6.44b	220.00 ±10.93a	0.043

Horizontally, means with identical letters were not significantly different ($P \geq 0.05$).

The w^i (g) ranged from 182.20 to 211.00 and the w^f (g) were from 181.20 to 230.00. The mean weights were found to rise in the G1 group (p = 0.043) and in the G5 group (p = 0.043). For the G2, G3 and G4 groups there were no statistical differences for the mean weights w^i and w^f ($p \geq 0.05$).

Significant tissue reactions to be qualitatively scored, such as inflammatory response, fibroblast proliferation, or vascular changes were not observed, as demonstrated in figures 2 (A-B-C-D) and 3 (A-B) when compared to the control group (Figure 3-C).

Figure 2- Photomicrograph of paraffin section s of Wistar rat keratinized palatal oral mucosa after hematoxylin eosin staining (200X) (A=group G2, B= group G3, C= group G4, D= group G5).

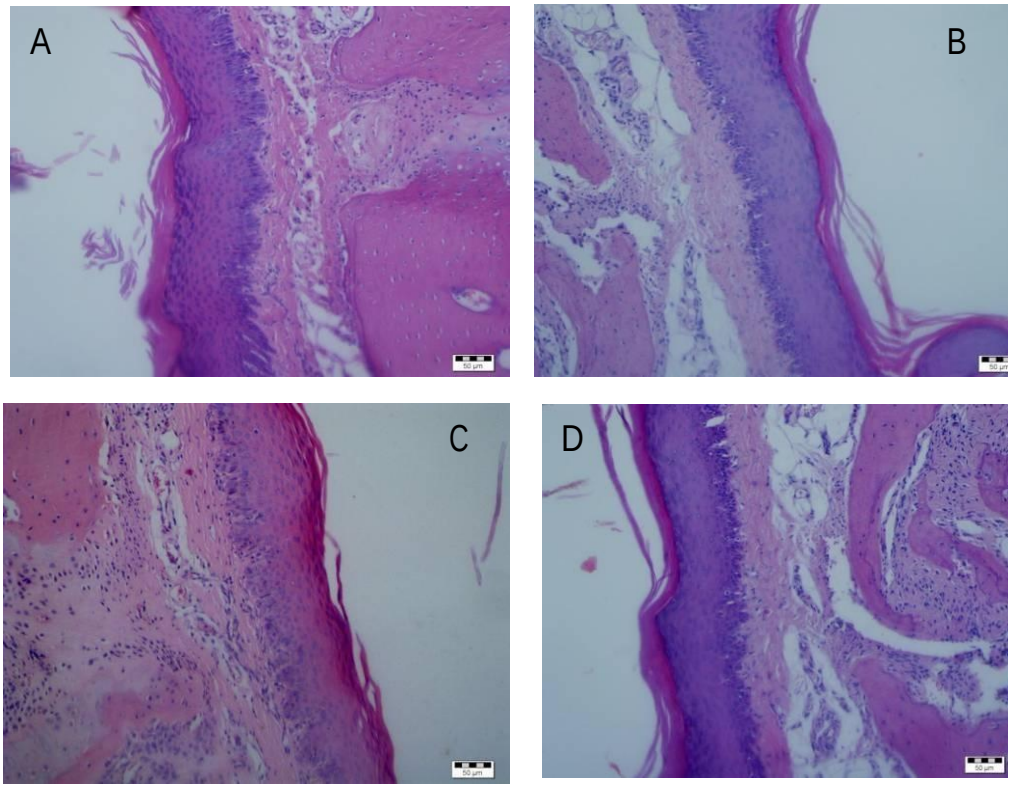
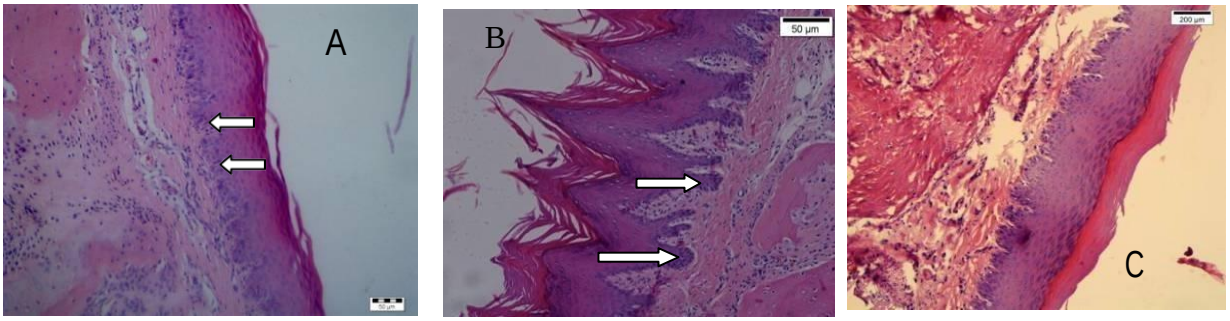


Figure 3- Photomicrograph of paraffin section s of Wistar rat keratinized palatal oral mucosa after hematoxylin eosin staining (200X) (A= Dentuflex HT, B= Lucitone 550 HT). In A arrowheads indicate the basal layer interface ridges , and in B the elongated basal layer interface ridges. In C: Control group (without plates).



The results from NT groups are shown in Table 3.

Table 3- Mean ± standard deviation (μm) of tissue parameters from resilient lining materials with no post polymerization treatment (n = 5).

Tissue parameters	Control	Lucitone	Dentusoft	Dentuflex	Trusoft	*P*
Cellular compartment	179.23 ± 33.29	238.31 ± 52.69	199.01 ± 74.93	173.80 ± 34.22	228.67 ± 102.82	0.440
Keratin thickness	43.33 ± 10.52	69.29 ± 27.84	27.61 ± 38.17	10.46 ± 11.06	44.66 ± 48.10	0.075
Total epithelial thickness	222.57 ± 36.26	307.60 ± 66.89	226.63 ± 95.74	184.30 ± 32.92	273.35 ± 118.22	0.148
Basal layer interface length	2446.86 ± 609.23	3089.41 ± 1285.56	2891.64 ± 772.49	2568.74 ± 616.67	2969.20 ± 801.06	0.721

Means followed by different letters are statistically different ($P < 0.05$).

Assessment of the thickness of keratin (KC - µm) ranged from 10.46 (± 11.06) to 69.29 (± 27.84) although statistical differences were not found among the materials tested, nor when compared with the control group ($p = 0.075$). The BL was not statistically different ($p \geq 0.05$). There were no significant differences in total epithelial thickness (TE) between materials tested nor between test groups and control group ($p \geq 0.05$). The results with post-polymerization heat treatment (HT) are shown in Table 4.

Table 4- Mean ± standard deviation (µm) of tissue parameters from resilient lining materials with post polymerization treatment (n = 5).

Tissue parameters	Control	Lucitone	Dentusoft	Dentuflex	Trusoft	*P*
Cellular compartment	179.23 ± 33.29	130.90 ± 27.67	233.86 ± 92.08	211.50 ± 25.91	165.43 ±88.81	0.115
Keratin thickness	43.33 ± 10.52	36.02 ± 10.63	49.76 ± 10.67	16.38 ± 11.10	38.61 ±41.94	0.068
Total epithelial thickness	222.57 ± 36.26	166.92 ± 35.75	283.62 ± 86.96	227.87 ± 34.69	204.04 ±120.07	0.180
Basal layer interface length	2446.86 ± 609.23^{AB}	2883.46 ± 588.78^{A}	2097.37 ± 372.88^{AB}	1878.77 ± 385.20^{B}	2470.37 ±421.53^{AB}	***0.037***

Means followed by different letters are statistically different ($P < 0.05$).

Assessment of the thickness of keratin (KC - µm) ranged from 16.38 (± 11.10) to 49.76 (± 10.6) although statistical differences were not found among the materials tested, nor when compared with the control group (p = 0.068). Figure 3 illustrates the basal layer interface length (BL) that was statistically different when comparing the groups G2 and G4 (p = 0.037). There were no significant differences in total epithelial thickness (TE) between materials tested, nor between test groups and control group ($p \geq 0.05$).

P-values from comparisons between NT and HT for all materials tested are shown in Table 5. The values of the thickness of keratin (KC - µm), total epithelium (TE), and cellular compartment were statistically higher for NT than HT only in the case of G2 ($p < 0.05$).

Table 5. *P*-value from comparison between with and without the heat post polymerization for all materials tested (n = 5)

Tissue parameters	Lucitone	Dentusoft	Dentuflex	Trusoft
Cellular compartment	0.004*	0.530	0.085	0.328
Keratin thickness	0.037*	0.247	0.423	0.838
Total epithelial thickness	0.003*	0.353	0.076	0.385
Basal layer interface length	0.753	0.072	0.067	0.253

*Statistically significant difference

Discussion

Soft liners for relining prostheses are considered to be acrylic resins which contain additives [1,6] that have been incompletely studied. Although there have been no observations of clinical problems attributable to the use of those compounds, there is experimental evidence of subtle toxicity[10,26]. The cytotoxicity test using the method of cell culture is considered to be a preliminary test to evaluate the biocompatibility of a material. Notwithstanding their scientific importance, cytotoxicity tests are considered to be initial tests and it is difficult to extrapolate data obtained from patients[35]. However, the elicited host response in *in vivo* models remains crucial for the biocompatibility evaluation of medical devices[36]. Usage tests may be the next step to evaluate the biological behavior of materials. For this purpose, animal experimentation tests are still the only generally acceptable form of testing the biocompatibility of dental materials[37]. *In vivo* studies using animal models have the advantage of providing an assessment of the biocompatibility of dental materials prior to their use in humans. It is widely known that results obtained from animal studies should be extrapolated to humans with caution. Such caution is particularly justified in situations where metabolic interactions and immune responses are part of the process of formation of potentially harmful agents, such as carcinogens. With dental materials, metabolic interactions between the host and the material probably play only a minor role in determining their biocompatibility[37-39].

The oral mucosa is one the most important physiological barriers against environmental stresses, chemical damages, mechanical agents, and bacterial infections. In addition, the oral mucosa is a cornified stratified squamous epithelium, supported and

fed by the underlying connective lamina propria. The continuous renewal process of maturation and differentiation of keratinocytes migrating from the deepest proliferative layer (basal layer) to the upper compartments, finally reaching the horny layer, is a process that guarantees the mechanical and structural integrity of the epithelium[40]. The oral mucosa he mucosa under dentures usually present some changes in the continuous renewal process of maturation and differentiation of keratinocytes, and this process is observed varying as histological changes to clinical abnormalities[40-43] as a process of adaptation of the epithelium in order to protect the adjacent structures[44].

Since the increase of the thickness of the oral mucosa under the denture base is also considered a physiological response to mechanical loading[45-46], and no compressive forces was reproduced in this study because the plates were fixed in the molars, we may not expect any increased proliferative activity of the epithelial cells due the mechanical compression factors[47-50]. The morpho-histometric changes assessed may be a response of the epithelium to the release of toxic substances[20-21,26,39,50-52] and/or residual monomers[24,31]. Despite the cytotoxicity reported *in vitro*[26], in this present *in vivo* study no tissue reactions such as inflammatory infiltrate, fibroblast proliferation, and vascular changes were observed for all materials tested. The toxic compounds in contact with tissue during polymerization were probably confined to the superficial horny layer of the keratinized epithelium[53]. These results can be explained by the greater resistance of the oral mucosa to the toxic substances released, compared to the cell culture, while these compounds are in direct contact with the cells in the cytotoxicity tests[54].

The quantitative assessment of the morphological parameters of keratin thickness (KC), total epithelial thickness (ET) and basal layer interface length (BL)[28] also aimed to evaluate the epithelium response to the materials tested. The null hypothesis of this study was rejected for the denture base material Lucitone 550. It was

observed for the Lucitone 550 with post-polymerization heat treatment a decrease at the thickness of keratin, cellular compartment, and total epithelial thickness when comparing it with Lucitone 550 without the application of the post-polymerization heat treatment. Since the post-polymerization heat treatment have demonstrated to reduce the amount of residual monomers and toxic substances[19,30] and consequently the use of this proceeding improves the biological properties of the denture base material[31,34,55], we could extrapolate that the proliferative response of the epithelium to this material was greater when the residual monomers and toxic substances release were not reduced by the post-polymerization treatment.

When comparing the materials tested in the group of the heat post-polymerization treatment application, the null hypothesis of this study was partially accepted. Therefore no morpho-histometric aspect changes in the rat palatal mucosa were demonstrate for the most lining materials tested with the exception of the material Dentuflex, which showed reduced basal layer interface ridges when compared to Lucitone 550 (but not with a significant level to the control). The reduced length of the basal layer ridges might be explained by the decreased continuous proliferative process of maturation and differentiation of keratinocytes migrating from the basal layer to the upper compartments. Possibly due to the above factors, without the post-polymerization treatment Dentuflex might have less adaptative alterations of the epithelium than Lucitone. In spite of the differences observed among Dentuflex and Lucitone, both materials showed similarities at the basal layer interface ridges when comparing each of them to the control group.

This *in vivo* study of biocompatibility was accomplished with a method developed by our research group (in press). In this study the experimental palatal plate of heat-polymerized acrylic resin Lucitone 550, fitting the animal's palate and covering

all molars, showed a failure rate of 10% percent of the plates, observed at the moment of the animal's death. The appliances reported by Barclay et al.[32] were relined with a resilient soft lining material and a hard chairside reline material. The devices were fixed in the palate of the rats by a retentive element encompassing the upper incisor teeth that were constructed from a band of 4 mm-wide stainless steel. The wire loop acted as retention for the acrylic. In the aforementioned methodology the appliances broke out of the palate and demonstrated a failure rate of 65%, probably because the appliances were placed in the incisors of the rats [32].

There have been concerns encountered in studies with palatal prostheses in rats related to weight loss and nutritional deficiencies, which affected the results of the studies evaluating virulence of microorganisms and biocompatibility. The effect of using palatal plates on the nutrition of the animals was evaluated by checking the weight of the animals at the time of the installation of the plate and comparing it with the weight after 14 days use of the plates. The wearing of the palatal plates fixed in the molars did not affect the animals' ability to eat a paste diet in this study, since no decline in the weight of the animals for any group was observed. Additionally, the average weight increased for the control group and for the Trusoft group after 21 days of the beginning of the paste diet. The method of customized impression probably promoted a proper adaptation to the devices.

Since the increase in the thickness of the denture-bearing mucosa is considered to be a physiological response to mechanical load[45-48], fitting the palatal plates with mechanical retention into the molars probably may not have generated enough mechanical stress to induce an increase in the proliferative activity of epithelial cells[47-48,50]. By means of morphologic criteria and HE technique, the results of the present study demonstrated that all the resilient materials tested *in vivo* in an animal usage test

were well tolerated by tissues during the period evaluated. Considering the limitations of the biocompatibility tests, and the fact that the evaluation of morphologic criteria do not gives all parameters for toxicity, it may be necessary other group of tests to state definitely that a material is nontoxic[51]. For this purpose, future studies would be appropriate, as using imunohistochemical study of Ki-67 expression to the demonstration of the cell proliferation and evaluate inflammatory epithelial changes at molecular levels[56-60].

5) Conclusions

- The post-polymerization heat treatment for Lucitone 550 was an effective method to reduce the morpho-histometric changes in the rat palatal mucosa.

-The resilient chairside lining materials tested did not cause significant morpho-histometric changes in the rat palatal mucosa.

Acknowledgements

This investigation was supported by the ARAUCARIA FOUNDATION (Grant 11386).

References

1) Mack PJ. Denture soft linings: clinical indications. Aust Dent J 1989;34:454–8.
2) Cain JR, Mitchell DL. Soft liner-retained, implant-supported overdenture: A technical note. Int J Oral Maxillofac Implants 1998;13:857–860
3) Kiat-Amnuay S, Khan Z, Gettleman L. Overdenture retention of four resilient liners over an implant bar. J Prosthet Dent 1999; 81:568–573.
4) Elsyad MA, Shoukouki AH. Resilient liner vs. clip attachment effect on peri-implant tissues of bar-implant-retained mandibular overdenture: A 1-year clinical and radiographical study. Clin Oral Implants Res 2010;21:473–480.
5) Elsyad MA. Prosthetic aspects and patient satisfaction with resilient liner and clip attachments for bar- and implant-retained mandibular overdentures: a 3-year randomized clinical study. Int J Prosthodont. 2012 Mar-Apr;25(2):148-56.
6) Murata H, McCabe JF, Jepson NJ, Hamada T. The influence of immersion solutions on the viscoelasticity of temporary soft lining materials. Dent Mater 1996; 12: 19–24.
7) Sofou A, Tsoupi I, Emmanouil J, Karayannis M. HPLCdetermination of residual monomers released from heat-cured acrylic resins. Anal Bioanal Chem 2005;381:1336–46
8) Murata H, Chimori H, Hong G, et al: Compatibility of tissue conditioners and denture cleansers: influence on surface conditions. Dent Mater J 2010; 29(4):446-53

9) Brożek R, Koczorowski R, Rogalewicz R, et al: Effect of denture cleansers on chemical and mechanical behavior of selected soft lining materials. Dent Mater 2011; 27(3):281-90

10) Gollamudi R, Lawrence WH, Rao RH, Autian J. Effects of phthalic acid esters on drug metabolizing enzymes of rat liver. J Appl Toxicol. 1985 Dec;5(6):368-71.

11) Pant N, Pant A, Shukla M, Mathur N, Gupta Y, Saxena D. Environmental and experimental exposure of phthalate esters: the toxicological consequence on humansperm. Hum Exp Toxicol. 2011 Jun;30(6):507-14.

12) Nakai M, Tabira Y, Asai D, Yakabe Y, Shimyozu T, Noguchi M, et al. Binding characteristics of dialkyl phthalates for the estrogen receptor. Biochem Biophys Res Commun 1999;254:311–4.

13) Munksgaard EC. Plasticizers in denture soft-lining materials: leaching and biodegradation. Eur J Oral Sci 2005;113:166–9

14) Chatterjee S, Dutta TK. Metabolism of butyl benzyl phthalate by Gordonia sp. strain MTCC 4818. Biochem Biophys Res Commun 2003;309:36–43.

15) Jiang JT, Sun WL, Jing YF, Liu SB, Ma Z, Hong Y, Ma L, Qin C, Liu Q, Stratton HJ, Xia SJ. Prenatal exposure to di-n-butyl phthalate induces anorectal malformations in male rat offspring. Toxicology. 2011 Dec 18;290(2-3):322-6.

16) Kedjarune U, Charoenworaluk N, Koontongkaew S. Release of methyl methacrylate from heat-cured and autopolymerized resins: cytotoxicity testing related to residual monomer. Aust Dent J. 1999 Mar;44(1):25-30.

17) Vallittu PK, Ruyter IE, Buykuilmaz S. Effect of polymerization temperature and time on the residual monomer content of denture base polymers. Eur J Oral Sci 1998;106:588–93.

18) Lee S, Lai Y, Hsu T. Influence of polymerization conditions on monomer elution and microhardness of autopolymerized polymethyl methacrylate resin. Eur J Oral Sci 2002;110:179–83.

19) Urban VM, Machado AL, Oliveira RV, Vergani CE, Pavarina AC, Cass QB. Residual monomer of reline acrylic resins. Effect of water-bath and microwave post-polymerizationtreatments. Dent Mater 2007;23:363–8.

20) Tsuchiya H, Hoshino Y, Tajima K, Takagi N. Leaching and cytotoxicity of formaldehyde and methyl methacrylate from acrylic resin denture base materials. J Prosthet Dent. 1994 Jun; 71(6):618-24.

21) Graham BS, Jones DW, Sutow EJ. An in vivo and in vitro study of the loss of plasticizer from soft polymer-gel materials. J Dent Res. 1991 May; 70(5):870-3.

22) Munksgaard EC. Leaching of plasticizers from temporary denture soft lining materials. Eur J Oral Sci 2004; 112: 101–104.

23) Lai YL, Chen YT, Lee SY, Shieh TM, Hung SL. Cytotoxic effects of dental resin liquids on primary gingival fibroblasts and periodontal ligament cells in vitro. J Oral Rehabil. 2004 Dec;31(12):1165-72.

24) Campanha NH, Pavarina AC, Giampaolo ET, Machado AL, Carlos IZ, Vergani CE. Cytotoxicity of hard chairside reline resins: effect of microwave irradiation and water bath postpolymerization treatments. Int J Prosthodont. 2006 Mar-Apr; 19(2):195-201.

25) Hashimoto Y, Tanaka J, Suzuki K, Nakamura M. Cytocompatibility of a tissue conditioner containing vinyl ester as a plasticizer. Dent Mater J. 2007 Nov; 26 (6):785-91.

26) Tay LY, Herrera DR, Quishida CC, Carlos IZ, Jorge JH. Effect of water storage and heat treatment on the cytotoxicity of soft liners. Gerodontology. 2012; 29(2):e275-80.

27) Gonçalves TS, Morganti MA, Campos LC, Rizzatto SM, Menezes LM. Allergy to auto-polymerized acrylic resin in an orthodontic patient. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2006 Mar;129(3):431-5.

28) Hensten-Pettersen A, Jacobsen N. Perceived side effects of biomaterials in prosthetic dentistry. J Prosthet Dent 1991;65:138–44.

29) Lunder T, Rogl-Butina M. Chronic urticaria from an acrylic dental prosthesis. Contact Dermatitis 2000;43:232–3.

30) Lamb DJ, Ellis B, Priestley D. The effects of process variables on levels of residual monomer in autopolymerizing dental acrylic resin. J Dent. 1983 Mar;11(1):80-8.

31) Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Biocompatibility of denture base acrylic resins evaluated in culture of L929 cells. Effect of polymerisation cycle and post-polymerisation treatments. Gerodontology. 2007 Mar;24(1):52-7.

32) Barclay SC, MacDonald DG, Watson IB. The effect of chairside relining materials on rat palatal mucosa. J Dent. 1997 May-Jul; 25 (3-4):251-5.

33) INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Specification 1567: denture base polymers. 2nd ed. Switzerland: ISO, 1998.

34) Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Pavarina AC, Machado AL, Carlos IZ. Effect of microwave postpolymerization treatment and of storage time in water on the cytotoxicity of denture base and reline acrylic resins. Quintessence Int 2009 40(10): e93-100.

35) Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials--advantages and limitations. J Dent. 1994;22 Suppl 2:S11. Review.

36) Hilborn J, Bjursten LM. A new and evolving paradigm for biocompatibility. J Tissue Eng Regen Med. 2007 Mar-Apr;1(2):110-9. 1984; 69:35–45.

37) Browne RM. Animal tests for biocompatibility of dental materials--relevance,advantages and limitations. J Dent. 1994; 22 Suppl 2:S21-4. Review.

38) Ali A, Bates JF, Reynolds AJ, Walker DM. The burning mouth sensation related to the wearing of acrylic dentures: an investigation. Br Dent J. 1986 Dec 20;161(12):444-7.

39) Baker S, Brooks SC, Walker DM. The release of residual monomeric methyl methacrylate from acrylic appliances in the human mouth: an assay for monomer in saliva. J Dent Res. 1988 Oct;67(10):1295-9.

40) Cook RJ. Response of the oral mucosa to denture wearing. J Dent. 1991Jun;19(3):135-47. Review.

41) Ostlund S. The effect of complete dentures on the gum tissues. A histological and histopathological investigation. Acta Odontol Scand. 1958; 16 (1).

42) Razek MK, Shaaban NA. Histochemical and histopathologic studies of alveolarmucosa under complete dentures. J Prosthet Dent. 1978 Jan;39(1):29-36.

43) Akal UK, Mocan A, Aydoğan S, Oygür T, Bağci L, Camdeviren H. Keratinization of

palatal mucosa beneath metal-based removable partial and acrylic-based complete dentures compared with normal palatal mucosa: a clinical, cytological and histological study. J Marmara Univ Dent Fac. 1997 Sep;2(4):665-72.

44) Andersen L, Karring T, Mackenzie I. Oral mucous membrane. In: Mjoer IA, Fejerskov O, editors. Human oral embryology and histology. Copenhagen: Munksgaard; 1986.

45) Niedermeier W. [Reactions of the oral mucosa to mechanical load stimuli from dentures]. Dtsch Zahnarztl Z. 1990; 45(8):443-8. Review. German.

46) Tsuruoka M, Ishizaki K, Sakurai K, Matsuzaka K, Inoue T. Morphological and molecular changes in denture-supporting tissues under persistent mechanical stress in rats. J Oral Rehabil. 2008 Dec;35(12):889-97.

47) Brunette DM. Mechanical stretching increases the number of epithelial cells synthesizing DNA in culture. J Cell Sci. 1984; 69:35-45.

48) Zentner A, Heaney TG, Sergl HG. Proliferative response of cells of the dentogingival junction to mechanical stimulation.Eur J Orthod. 2000; 22:639–648.

49) Hara T, Sato T, Mori S, Shirai H, Maruo Y, Minagi S. Argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in mucosal epithelium under experimental denture basesin rats. J Oral Pathol Med. 2000 Jan;29(1):33-8.

50) Oki K, Sato T, Hara T, Minagi S. Histopathological changes in the tissues under a denture base in experimental osteoporosis with a non-pressure covering or bearing continuous pressure. J Oral Rehabil. 2002 Jun;29(6):594-603.

51) Lefebvre CA, Schuster GS, Richardson DW, Barron DJ. The cytotoxic effects of denture base resin sealants. Int J Prosthodont. 1992 Nov-Dec;5(6):558-62.

52) Atay A, Bozok Cetintas V, Cal E, Kosova B, Kesercioglu A, Guneri P. Cytotoxicity of hard and soft denture lining materials. Dent Mater J. 2012;31(6):1082-6.

53) Inoue T, Miyakoshi S, Shimono M. The in vitro and in vivo influence of 4-META ⁄ MMA-TBB resin components on dental pulp tissues. Adv Dent Res. 2001;15:101–104.

54) Sjögren G, Sletten G, Dahl JE. Cytotoxicity of dental alloys, metals, and ceramics assessed by millipore filter, agar overlay, and MTT tests. J Prosthet Dent 2000;84: 229–36.

55) Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Effect of post-polymerization heat treatments on the cytotoxicity of two denture base acrylic resins. J Appl Oral Sci. 2006 Jun; 14(3):203-7.

56) Verheijen R, Kuijpers HJH, Van Driel R, Beck JLM, Van Dierendonck JH, Brakenhoff GJ, Ramaekers FCS. Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen II. Localization in mitotic cells and association with chromosomes. JCell Sci 1989; 92:531–540.

57) Landberg G, Tan EM, Roos G. Flow cytometric multiparameter analysis of proliferating cell nuclear antigen/cyclin and Ki-67 antigen: A new view of the cell cycle. Exp Cell Res 1990;187: 111–118.

58) Schluter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Becker MHG, Key G, Flad H-D, Gerdes J. The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: A very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins. J Cell Biol 1993;123:513–522.

59) Dekker A, Panfil C, Valdor M, Pennartz G, Richter H, Mittermayer CH, Kirkpatrick CJ. Quantitative methods for in vitro cytotoxicity testing of biomaterials. Cells Mater 1994;4:101–112.

60) Sjöqvist U, Ost A, Löfberg R. Increased expression of proliferative Ki-67 nuclear antigen is correlated with dysplastic colorectal epithelium in ulcerative colitis. Int J Colorectal Dis. 1999 Apr;14(2):107-13.

5. DISCUSSÃO

Os materiais resilientes para reembasamento de próteses removíveis são considerados resinas acrílicas que contêm aditivos em sua formulação[65-66]. Os materiais resilientes à base de resina acrílica assim como os condicionadores de tecido indicados para reembasamento imediato são, na sua maioria, resinas acrílicas autopolimerizáveis formuladas com polímeros de alto peso molecular e uma mistura líquida de ésteres aromáticos e etanol. A mistura destes produtos líquidos pode conter de 60% a 80% de agentes plastificantes que têm a função de aumentar a flexibilidade e manter a textura flexível e macia do material recém polimerizado[35,66]. Na literatura não é encontrada nenhuma observação de problemas clínicos atribuídos à utilização de tais compostos, no entanto são relatadas evidências de citotoxicidade leve a moderada[33,67].

O teste de citotoxicidade utilizando o método de cultura de células é considerado um teste preliminar para avaliar a biocompatibilidade de um material. Apesar da sua importância científica, os testes de citotoxicidade são considerados iniciais, e seus dados são difíceis de serem extrapolados para os pacientes[43]. Sendo assim, a resposta do hospedeiro em modelos in vivo continua sendo crucial para a avaliação da biocompatibilidade de produtos utilizados em áreas da saúde[68]. O passo seguinte para avaliar o comportamento biológico de materiais são os testes de uso. Para esta finalidade testes de experimentação com animais ainda têm sido a forma geralmente melhor aceita para testar a biocompatibilidade de materiais dentários[47]. Os estudos in vivo utilizando modelos animais têm a vantagem de fornecer uma avaliação da biocompatibilidade de materiais dentários antes do seu uso em seres humanos. É reconhecido que os resultados obtidos a partir de estudos em animais também devem ser extrapolados para o homem com cautela[14,37,47].

A mucosa bucal é um epitélio escamoso estratificado cornificado, apoiado e nutrido pelo tecido conjuntivo subjacente, e uma das barreiras fisiológicas mais importantes contra danos químicos, agentes mecânicos, e infecções bacterianas. Além disso, o processo de renovação contínua de maturação e diferenciação de queratinócitos que migram a partir da camada mais profunda proliferativa (camada basal) para o compartimento das camadas espinhosa e granulosa, chegando finalmente à

camada córnea, é um processo que garante a integridade mecânica e estrutural do epitélio[69-70]. A mucosa sob as próteses removíveis geralmente é portadora de alguma alteração neste processo de renovação contínua de maturação e diferenciação de queratinócitos, e uma gama de respostas variando desde anomalias histológicas transitórias até anormalidade clínica podem ser encontradas[70-73], como um processo de adaptação do epitélio com o objetivo de proteger as estruturas adjacentes[69].

O aumento na espessura da mucosa sob as próteses também é considerado como uma resposta fisiológica a carga mecânica compressiva[74-77]. No presente estudo, o fato das placas palatinas serem fixadas nos molares provavelmente não promoveu forças de compressão que induzissem um aumento da atividade proliferativa das células do epitélio e hiperqueratinização devido a fatores mecânicos de compressão[40,75-76,78], e qualquer alteração histomorfométrica observada pode ser uma resposta do epitélio frente a liberação de substâncias tóxicas[31,33,36-40] e monômeros residuais[51-52].O material de resina acrílica para base de dentaduras Lucitone 550 demonstrou um aumento na espessura de queratina quando o tratamento térmico de pós-polimerização não era aplicado. Sendo o tratamento térmico pós-polimerização com água aquecida um procedimento favorável para diminuir a quantidade de monômeros residuais e substâncias residuais[48-52,61] pode-se dizer que o tratamento térmico pós polimerização melhorou as propriedades biológicas no material de base de prótese Lucitone 550, e uma resposta proliferativa do epitélio a este material não foi observada morfometricamente.

Apesar da citotoxicidade in vitro relatada dos materiais reembasadores resilientes[33,36], no presente estudo in vivo não foram encontrados infiltrado inflamatório, alterações de morfologia celular, atipias celulares, e alterações histomorfológicas no epitélio da mucosa dos ratos para o material de base para prótese e para os reembasadores resilientes testados. Estes resultados controversos podem ser explicados pela maior resistência da mucosa oral para as substâncias tóxicas liberadas em comparação com a cultura de células, uma vez que os compostos tóxicos em contato com o tecido durante a polimerização foram confinados à camada superficial da camada córnea do epitélio queratinizado[79] enquanto estes compostos são colocados em contato direto com a cultura de células em testes de citotoxicidade[80]. No entanto, o grupo reembasado com Dentuflex demonstrou medidas reduzidas no comprimento das cristas

da interface da membrana basal quando comparado ao grupo do Lucitone 550 quando o tratamento térmico pós-polimerização foi aplicado. Esta redução significa que uma diminuição na quantidade das cristas da membrana basal, o que pode indicar uma diminuição no processo proliferativo que pode ter ocorrido para o grupo do material Dentuflex em relação ao grupo que utilizou Lucitone 550. Embora estas diferenças observadas quando comparamos Dentuflex e Lucitone 550 com o tratamento térmico de pós-polimerização, tais resultados não foram diferentes quando os mesmos foram comparados ao grupo controle.

Este estudo in vivo de biocompatibilidade foi realizado com o método desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa, no qual a placa experimental de resina acrílica Lucitone 550 é instalada cobrindo todos os molares. A presente metodologia mostrou uma taxa de falhas de 16% das placas observada no momento do sacrifício do animal. Os aparelhos fixado no palato de ratos referido por Barclay et al.[45] foram reembasados com um material resiliente e material rígido para reembasamento imediato, e foram fixados no palato dos ratos através de um elemento de retenção que circundava os dentes incisivos superiores, que foram construídos a partir de uma banda de aço inoxidável que possuía de 4 mm de largura. Desta forma, os aparelhos caíam do palato e demonstraram uma taxa de falhas de 65%, provavelmente por que os dispositivos eram fixados também aos dentes incisivos dos ratos[45].

As maiores preocupações encontradas nos estudos com aparelhos palatais em ratos são a perda de peso e deficiências nutricionais, que poderiam afetar os resultados obtidos em estudos de avaliação da virulência de microorganismos e de biocompatibilidade. Os efeitos negativos da utilização das placas palatais na manutenção da saúde e na alimentação dos animais foram avaliados no presente estudo através de controle da massa corporal dos animais. A massa corporal (g) dos animais no momento do início da dieta pastosa e depois dos 14 dias em que os animais utilizaram as placas palatinas foi obtida. O uso das placas palatinas fixadas nos molares não afetou a capacidade do animal de se alimentar com a dieta pastosa utilizada no presente estudo, uma vez que nenhum declínio nos pesos dos animais de qualquer grupo foi observado. Foi observado um aumento na média de massa corporal para o grupo de controle e para o grupo do material Trusoft após o período de 21 dias a partir do início da dieta pastosa. Provavelmente isso se deve ao método de impressão individualizada para fabricação das

placas, o que promoveu uma adaptação adequada dos dispositivos, que permitiu que os animais se alimentassem corretamente, apesar de estarem impedidos de roer a ração.

Observou-se que o período de utilização das placas por 14 dias, resultou em alterações da rugosidade da superfície dos materiais à base de resina acrílica Trusoft, Dentuflex e Dentusoft. Assim, com base na evidência deste estudo, todos os materiais resilientes à base de resina acrílica não preservaram a sua integridade superficial inicial in vivo durante o período testado de 14 dias. Machado et al.[81] observaram uma diminuição da rugosidade da superfície de alguns materiais, quando imersos em água, e as diferenças em comparação com o valor inicial de rugosidade média (leitura base) foram mais pronunciados quando as amostras foram mantidas em água durante 4 semanas. No entanto, os resultados no presente estudo indicam que a degradação de superfície in situ dos materiais reembasadores resilientes à base de resina acrílica já ocorreu no período de duas semanas (14 dias).

Williams & Lewis[82] observaram que a rugosidade da superfície de base da prótese contribui indiretamente em lesões de tecido oral. A rugosidade da superfície aumentada de um reembasador para prótese é uma propriedade que pode interferir na longevidade do mesmo[56] e, consequentemente, pode afetar diretamente ou indiretamente a saúde dos tecidos orais, e ainda, pode estar indiretamente ligada à sua biocompatibilidade. No presente estudo in vivo, todos os materiais resilientes testados demonstraram uma rugosidade superficial similar imediatamente após o procedimento de reembasamento (IRA), que excedeu o parâmetro considerado ideal em meio oral[83]. Numa revisão de literatura para a rugosidade superficial de materiais dentários, um limiar de 0,2 µm foi sugerido como o limite superior para rugosidade superficial para uma menor retenção bacteriana possível[84]. Apesar das diferenças na definição de amostra entre outros testes in vitro e do presente estudo, o rugosímetro utilizado (Surftest SJ-401) foi calibrado para não considerar os vales e picos da amostra, o que de acordo com o fabricante não impede a comparação com os resultados de outros estudos com amostras padronizadas, ou seja, polimerizados em íntimo contato com acetato e placa de vidro. As médias de rugosidade Ra obtidas no presente estudo foram semelhante aos estudos de Zissis et al.[63] que avaliaram in vitro a rugosidade superficial de materiais resilientes e encontraram médias Ra de 3,2 µm a 4,0 µm. Machado et al.[81]demonstraram o material Trusoft como o mais rugoso dentre os materiais testados

em seu estudo, com as médias Ra iniciais de 3,54 µm, a qual é bastante similar à obtida no presente estudo (3,35 µm), para esse material.

Ao compararmos os materiais testados, após 14 dias in vivo, foi observada diferença nos valores de rugosidade entre os materiais testados. O material resiliente à base de silicone apresentou menor rugosidade que os materiais resilientes à base de resina acrílica Dentuflex, Dentusoft e Trusoft, os quais não diferiram entre si. Diferentes composições e o caráter hidrofílico do material[85] podem ser considerados como uma possível explicação para as características de superfície diferentes em longo prazo entre os materiais testados. Os reembasadores resilientes à base de resina acrílica são principalmente materiais autopolimerizáveis, compostos de uma mistura líquida de um éster aromático e etanol, dispersos em polímeros de alto peso molecular e, com a adição de plastificantes[86]. Plastificantes e etanol são componentes de baixo peso molecular que não reagem e que permanecem presos na rede de polímeros e são propensos à lixiviação em ambiente úmido, como em saliva[34]. Além disso, a liberação do agente plastificante por lixiviação é um fenômeno descrito como um fator de aceleração no processo de deterioração do material resiliente à base de resina acrílica[87]. Isto não ocorreu com o material à base de dimetilsiloxano devido à sua característica hidrofóbica, que permite pequenas quantidades de absorção de água e de degradação quando em meio úmido[85].

Os estudos in vivo têm a vantagem da reprodução das características biológicas da mucosa de seres humanos, além disso, os materiais tiveram neste estudo a manipulação, polimerização e uso de modo semelhante como a sua utilização clínica. A anatomia do palato pode influenciar a rugosidade da superfície, uma vez que a superfície em contato com um substrato tende a reproduzir as propriedades do mesmo[62]. Neste estudo in vivo, a polimerização dos materiais de reembasamento foi obtida de forma semelhante à de um material de moldagem em contato direto com o substrato da mucosa palatina. Deste modo foi reproduzida a anatomia do palato, em presença de saliva, as mudanças térmicas, irregularidades do tecido e fatores microbiológicos, enquanto que em estudos in vitro os materiais têm a sua configuração geralmente em contato com acetato e uma placa de vidro [63,81]. Além disso, o fato deste método de fixação de dispositivos palatinos não ter induzido declínio no peso dos animais de qualquer grupo, torna a metodologia do estudo viável para futuros estudos

microbiológicos e de biocompatibilidade dos materiais para base e reembasamento de próteses.

Quando as placas foram fixadas sobre o palato e nos molares dos ratos, a superfície das placas em contato com o palato estava sob o efeito do atrito da mucosa e do atrito mecânico de alimentação residual contra a superfície da placa, consequentemente, este estudo não pode ser totalmente extrapolado para a situação clínica, como por exemplo, nenhum método de limpeza para a placa foi realizada. A abrasão mecânica provocada por escovação dos materiais reembasadores na base da prótese pode resultar em perda de massa do material, alterações de superfície[88] e dificuldade na manutenção da higiene[89]. Brozek et al.[35] demonstraram que as propriedades dos reembasadores resilientes foram afetadas por agentes de limpeza. Futuros estudos in vivo com análise imunohistoquímica com o intuito de demarcar a proliferação celular e as mudanças inflamatórias do epitélio a nível molecular frente à utilização de materiais reembasadores podem ser apropriados[90-94], além de estudos que avaliem o biofilme e o efeito dos métodos de limpeza diária sobre a degradação destes materiais.

6. CONCLUSÕES

O tratamento térmico de pós-polimerização foi efetivo em reduzir as alterações histomorfométricas na mucosa palatina de ratos quando o material acrílico de base para próteses Lucitone 550 foi utilizado.

O tratamento térmico de pós-polimerização proposto não afetou as características histomorfométricas no palato de ratos, quando utilizados nos seguintes materiais resilientes: Dentusoft, Dentuflex e Trusoft.

Por meio de dados quantitativos, a análise histomorfológica deste estudo indica que não houve hiperplasia/atrofia epitelial nem hiperqueratose (espessamento do estrato córneo) na mucosa do rato em qualquer um dos materiais resilientes testados durante o período de avaliação. Reações de resposta inflamatória, proliferação de fibroblastos ou alterações vasculares não foram observadas.

O período de 14 dias in vivo resultou em mudanças na rugosidade superficial dos materiais testados.

Dentuflex, Trusoft e Dentusoft demonstraram maiores médias de rugosidade superficial quando comparados ao Ufigel P e a rugosidade de Trusoft foi superior também à de Dentusoft.

REFERÊNCIAS*

1) Craig RG. Prosthetics applications of polymers. In: . Restorative dental materials. 10.ed. St. Louis: Mosby, 1997. cap.19, p.500-551

2) Spencer HR, Gariaeff P. The present status of vulcanite versus plastics a base plate materials. Contact. Point., San Francisco, 1949 June 27: 263-267.

3) Woelfel JB, Paffenbarger GC. Dimensional changes occurring in artificial dentures Int Dent J 1959, 9:451–460

4) Craig RG, Powers JM; Materiais Dentários Restauradores, 11. Ed. São Paulo: Santos, 2004.

5) Donovan TE, Hurst RG, Campagni WV. Physical properties of acrylic resin polymerized by four different techniques. J Prosthet Dent. 1985 Oct;54(4):522-4.

6) Lygre H, Solheim E, Gjerdet NR. Leaching from denture base materials in vitro. Acta Odontol Scand. 1995 Apr;53(2):75-80.

7) Anusavice, 1998; ANUSAVICE, K.J. Resina para base de dentadura In: _____. Phillips materiais dentários. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, cap.11, p.140-160.

8) Bartoloni JA, Murchison DF, Wofford DT, Sarkar NK. Degree of conversion in denture base materials for varied polymerization techniques. J Oral Rehabil 2000 Jun;27(6):488-93.

9) Lamb DJ, Ellis B, Priestley D. The effects of process variables on levels of residual monomer in autopolymerizing dental acrylic resin. J Dent. 1983 Mar;11(1):80-8.

*Referências em Vancouver de acordo com as normas do Programa de Pós-graduação em Odontologia.

10) Vallittu PK, Ruyter IE, Buykuilmaz S. Effect of polymerization temperature and time on the residual monomer content of denture base polymers. Eur J Oral Sci 1998 Feb;106(1):588-93.

11) Kedjarune U, Charoenworaluk N, Koontongkaew S. Release of methyl methacrylate from heat-cured and autopolymerized resins: cytotoxicity testing related to residual monomer. Aust Dent J. 1999 Mar;44(1):25-30.

12) Hensten-Pettersen A, Jacobsen N. Perceived side effects of biomaterials in prosthetic dentistry. J Prosthet Dent 1991;65:138–44.

13) Fisher AA. Allergic sensitization of the skin and oral mucosa to acrylic denture materials. J Am Med Assoc. 1954 Sep 18;156(3):238-42.

14) Ali A, Bates JF, Reynolds AJ, Walker DM. The burning mouth sensation related to the wearing of acrylic dentures: an investigation. Br Dent J. 1986 Dec 20;161(12):444-7.

15) Gonçalves TS, Morganti MA, Campos LC, Rizzatto SM, Menezes LM. Allergy to auto-polymerized acrylic resin in an orthodontic patient. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2006 Mar;129(3):431-5.

16) Bates Jf, Smith Dc. Evaluation Of Indirect Resilient Liners For Dentures:Laboratory And Clinical Tests. J Am Dent Assoc. 1965 Feb;70:344-53.

17) Wright PS. The success and failure of denture soft lining materials in clinical use. J Dent. 1984; 12(4): 319-27

18) Braden M, Wright PS, Parker S. Soft lining materials--a review. Eur J Prosthodont Restor Dent. 1995 Jun;3(4):163-74. Review.

19) Rueggeberg FA. From vulcanite to vinyl, a history of resins in restorative dentistry. J Prosthet Dent. 2002 Apr;87(4):364-79. Review.

20) Murata H, Taguchi N, Hamada T, Kawamura M, McCabe JF. Dynamic viscoelasticity of soft liners and masticatory function. J Dent Res. 2002 Feb;81(2):123.

21) International Organization for Standardization. ISO. 10139-1. Dentistry-resilient lining materials for removable dentures-part 1: short-term materials. 1st ed.December 1, 1991.

22) International Organization for Standardization. ISO/FDIS 10139-2. Dentistry-soft lining materials for removable dentures part 2: materials for long-term use. 10139-2:1999(E)

23) Adrian ED, Krantz WA, Ivanhoe JR. The use of processed silicone to retain the implant-supported tissue-borne overdenture. J Prosthet Dent 1992;67:219–222.

24) Cain JR, Mitchell DL. Soft liner-retained, implant-supported overdenture: A technical note. Int J Oral Maxillofac Implants 1998;13:857–860.

25) Kiat-Amnuay S, Khan Z, Gettleman L. Overdenture retention of four resilient liners over an implant bar. J Prosthet Dent 1999; 81:568–573.

26) Elsyad MA, Shoukouki AH. Resilient liner vs. clip attachment effect on peri-implant tissues of bar-implant-retained mandibular overdenture: A 1- year clinical and radiographical study. Clin Oral Implants Res 2010;21:473– 480.

27) Elsyad MA. Prosthetic aspects and patient satisfaction with resilient liner and clip attachments for bar- and implant-retained mandibular overdentures: a 3-year randomized clinical study. Int J Prosthodont. 2012 Mar-Apr;25(2):148-56.

28) Ruyter IE. Release of formaldehyde from denture base polymers. Acta OdontolScand. 1980;38(1):17-27.

29) Lewis BB, Chestner SB. Formaldehyde in dentistry: a review of mutagenic and carcinogenic potential. J Am Dent Assoc. 1981 Sep;103(3):429-34.

30) Lefebvre CA, Knoernschild KL, Schuster GS. Cytotoxicity of eluates from light-polymerized denture base resins. J Prosthet Dent. 1994 Dec;72(6):644-50.

31) Graham BS, Jones DW, Sutow EJ. An in vivo and in vitro study of the loss of plasticizer from soft polymer-gel materials. J Dent Res. 1991 May;70(5):870-3.

32) Hashimoto Y, Tanaka J, Suzuki K, Nakamura M. Cytocompatibility of a tissue conditioner containing vinyl ester as a plasticizer. Dent Mater J. 2007 Nov;26(6):785-91.

33) Tay LY, Herrera DR, Quishida CC, Carlos IZ, Jorge JH. Effect of water storage and heat treatment on the cytotoxicity of soft liners. Gerodontology. 2012; 29(2):e275-80.

34) Munksgaard EC. Leaching of plasticizers from temporary denture soft lining materials. Eur J Oral Sci 2004; 112: 101–104

35) Brożek R, Koczorowski R, Rogalewicz R, Voelkel A, Czarnecka B, Nicholson JW.Effect of denture cleansers on chemical and mechanical behavior of selected soft lining materials. Dent Mater 2011 Mar;27(3):281-90.

36) Atay A, Bozok Cetintas V, Cal E, Kosova B, Kesercioglu A, Guneri P. Cytotoxicity of hard and soft denture lining materials. Dent Mater J. 2012;31(6):1082-6.

37) Baker S, Brooks SC, Walker DM. The release of residual monomeric methyl methacrylate from acrylic appliances in the human mouth: an assay for monomer in saliva. J Dent Res. 1988 Oct;67(10):1295-9.

38) Lefebvre CA, Schuster GS, Caughman GB, Caughman WF. Effects of denture base resins on oral epithelial cells. Int J Prosthodont. 1991 Jul-Aug;4(4):371-6

39) Tsuchiya H, Hoshino Y, Tajima K, Takagi N. Leaching and cytotoxicity of formaldehyde and methyl methacrylate from acrylic resin denture base materials. J Prosthet Dent. 1994 Jun; 71(6):618-24.

40) Oki K, Sato T, Hara T, Minagi S. Histopathological changes in the tissues under a denture base in experimental osteoporosis with a non-pressure

covering or bearing continuous pressure. J Oral Rehabil. 2002 Jun;29(6):594-603.

41) Hensten-Pettersen A. Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. Int Endod J. 1988 Mar;21(2):89-99. Review.

42) Schweikl H, Schmalz G. Toxicity parameters for cytotoxicity testing of dental materials in two different mammalian cell lines. Eur J Oral Sci. 1996 Jun;104(3):292-9. Erratum in: Eur J Oral Sci 1996 Aug;104(4 Pt 1):412.

43) Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dentalmaterials--advantages and limitations. J Dent. 1994;22 Suppl 2:S11. Review.

44) Harsanyi BB, Foong WC, Howell RE, Hidi P, Jones DW. Hamster cheek-pouch testing of dental soft polymers. J Dent Res. 1991 Jun;70(6):991-6.

45) Barclay SC, MacDonald DG, Watson IB. The effect of chairside relining materials on rat palatal mucosa. J Dent. 1997 May-Jul; 25(3-4):251-5.

46) Ebadian B, Razavi M, Soleimanpour S, Mosharraf R. Evaluation of tissue reaction to some denture-base materials: an animal study. J Contemp Dent Pract 2008 May 1;9(4):67-74.

47) Browne RM. Animal tests for biocompatibility of dental materials--relevance,advantages and limitations. J Dent. 1994;22 Suppl 2:S21-4. Review.

48) Lamb DJ, Ellis B, Priestley D. The effects of process variables on levels of residual monomer in autopolymerizing dental acrylic resin. J Dent. 1983 Mar;11(1):80-8.

49) Urban VM, Machado AL, Oliveira RV, Vergani CE, Pavarina AC, Cass QB. Residual monomer of reline acrylic resins. Effect of water-bath and microwave post-polymerization treatments. Dent Mater. 2007 Mar;23(3):363-8.

50) Urban VM, Machado AL, Vergani CE, Giampaolo ET, Pavarina AC, deAlmeida FG, Cass QB. Effect of water-bath post-polymerization on the

mechanical properties,degree of conversion, and leaching of residual compounds of hard chairside reline resins. Dent Mater. 2009 May;25(5):662-71.

51) Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Biocompatibility of denture base acrylic resins evaluated in culture of L929 cells. Effect of polymerisation cycle and post-polymerisation treatments. Gerodontology. 2007 Mar;24(1):52-7.

52) Campanha NH, Pavarina AC, Giampaolo ET, Machado AL, Carlos IZ, Vergani CE. Cytotoxicity of hard chairside reline resins: effect of microwave irradiation and water bath postpolymerization treatments. Int J Prosthodont. 2006 Mar-Apr;19(2):195-201.

53) Nikawa, H., Yamamoto, T., Hayashi, S., Nikawa, Y. & Hamada, T. Growth and/or acid production of Candida albicans on soft lining materials in vitro. J Oral Rehab 1994; 21:585.

54) Bollen CML, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. Dental Materials 1997; 13(4): 258-259.

55) Radford DR, Watson TF, Walter JD, Challacombe SJ. The effect of surface machining on heat cured acrylic resin and two soft denture base materials: a scanning electron microscope and confocal microscope evaluation. J Prosthet Dent 1997; 78(2): 200-5.

56) Casey DM, Scheer EC. Surface treatment of a temporary soft liner for increased longevity. J Prosthet Dent 1993; 69(3): 318-34.

57) Murata H, McCabe JF, Jepson NJ, Hamada T. The influence of immersion solutions on the viscoelasticity of temporary soft lining materials. Dent Mater 1996; 12: 19-24

58) Barclay S.C., MacDonald D.G., Watson LB. The effect of diet on palatal prosthetic coverage in rats. Journal of Dentistry. 1995; 25: 71-77.

59) Mezadri, T.M.; Tomáz, V.A.; Amaral, V.L.L. Animais de laboratório: cuidados na iniciação experimentação. Ed. UFSC, Florianópolis, 2004. 155p.

60) International Organization for Standardization. Specification 1567: denture base polymers. 2nd ed. Switzerland: ISO, 1998.

61) Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Pavarina AC, Machado AL, Carlos IZ. Effect of microwave postpolymerization treatment and of storage time in water on the cytotoxicity of denture base and reline acrylic resins. Quintessence Int 2009 Nov-Dec;40(10): e93-100.

62) Loney RW, Price RBT, Murphy DG. The Effect of Polishing on Surface Roughness of Tissue Conditioners. Int J Prosthodont 2000; 13(3): 209-13.

63) Zissis AJ, Polyzois GL, Yannikakis SA, Harrison A. Roughness of denture materials: a comparative study. Int J Prosthodont 2000; 13(2): 136-40.

64) Faul F, Erdfelder E, Buchner A, Lang AG. Statistical power analyses using G*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. Behav Res Methods 2009 Nov; 41(4):1149-60.

65) Mack PJ. Denture soft linings: clinical indications. Aust Dent J 1989;34:454–8.

66) Murata H, Chimori H, Hong G, Hamada T, Nikawa H. Compatibility of tissue conditioners and denture cleansers: influence on surface conditions. Dent Mater J 2010; 29(4):446-53

67) Gollamudi R, Lawrence WH, Rao RH, Autian J. Effects of phthalic acid esters on drug metabolizing enzymes of rat liver. J Appl Toxicol. 1985;5(6):368-71.

68) Hilborn J, Bjursten LM. A new and evolving paradigm for biocompatibility. J Tissue Eng Regen Med. 2007 Mar-Apr;1(2):110-9. 1984; 69:35–45.

69) Andersen L, Karring T, Mackenzie I. Oral mucous membrane. In: Mjoer IA, Fejerskov O, editors. Human oral embryology and histology. Copenhagen: Munksgaard; 1986.

70) Cook RJ. Response of the oral mucosa to denture wearing. J Dent. 1991Jun; 19(3):135-47. Review.

71) Ostlund S. The effect of complete dentures on the gum tissues. A histological and histopathological investigation. Acta Odontol Scand. 1958; 16 (1).

72) Razek MK, Shaaban NA. Histochemical and histopathologic studies of alveolarmucosa under complete dentures. J Prosthet Dent. 1978 Jan;39(1):29-36.

73) Akal UK, Mocan A, Aydoğan S, Oygür T, Bağci L, Camdeviren H. Keratinization of palatal mucosa beneath metal-based removable partial and acrylic-based complete dentures compared with normal palatal mucosa: a clinical, cytological and histological study. J Marmara Univ Dent Fac. 1997 Sep;2(4):665-72.

74) Niedermeier W. [Reactions of the oral mucosa to mechanical load stimuli from dentures]. Dtsch Zahnarztl Z. 1990; 45(8):443-8. Review. German.

75) Hara T, Sato T, Mori S, Shirai H, Maruo Y, Minagi S. Argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in mucosal epithelium under experimental denture bases in rats. J Oral Pathol Med. 2000 Jan;29(1):33-8.

76) Zentner A, Heaney TG, Sergl HG. Proliferative response of cells of the dentogingival junction to mechanical stimulation.Eur J Orthod. 2000; 22:639–648.

77) Tsuruoka M, Ishizaki K, Sakurai K, Matsuzaka K, Inoue T. Morphological and molecular changes in denture-supporting tissues under persistent mechanical stress in rats. J Oral Rehabil. 2008 Dec;35(12):889-97.

78) Brunette DM. Mechanical stretching increases the number of epithelial cells synthesizing DNA in culture. J Cell Sci. 1984; 69:35-45.

79) Inoue T, Miyakoshi S, Shimono M. The in vitro and in vivo influence of 4-META／MMA-TBB resin components on dental pulp tissues. Adv Dent Res. 2001;15:101–104.

80) Sjögren G, Sletten G, Dahl JE. Cytotoxicity of dental alloys, metals, and ceramics assessed by millipore filter, agar overlay, and MTT tests. J Prosthet Dent 2000;84: 229–36.

81) Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE, Souza JF, Jorge JH. Changes in roughness of denture base and reline materials by chemical disinfection or microwave irradiation: surface roughness of denture base and reline materials. J Appl Oral Sci 2011; 19(5):521-8.

82) Williams DW, Lewis MA. Isolation and identification of Candida from the oral cavity. Oral Dis 2000;6:3-11. Review

83) Quirynen M, Marechal M, Busscher HJ, Weerkamp AH, Darius PL, Van Steenberghe D. The influence of surface-free energy and surface roughness on early plaque formation. An in vivo study in man. Journal of Clinical Periodontology 1990; 17(3):138-144.

84) Bollen CML, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. Dental Materials 1997; 13(4): 258-259.

85) Mancuso DN, Goiato MC, Zuccolotti BC, Moreno A, Dos Santos DM, Pesqueira AA. Effect of thermocycling on hardness, absorption, solubility and colour change of soft liners. Gerodontology 2012 Jun; 29(2):e215-9.

86) Sofou A, Tsoupi I, Emmanouil J, Karayannis M. HPLC determination of residual monomers released from heat-cured acrylic resins. Anal Bioanal Chem 2005 Apr; 381(7):1336-46.

87) Murata H, Toki K, Hong G, et al: Effect of tissue conditioners on the dynamic viscoelastic properties of a heat-polymerized denture base. J Prosthet Dent 2002;88:409-414.

88) Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE, Pavarina AC, da Silva Lopes Salles D, Jorge JH. Weight loss and changes in surface roughness of denture base and reline materials after simulated toothbrushing in vitro. Gerodontology 2012 Jun; 29(2):e121-7.

89) Taylor RL, Bulad K, Verran J, McCord JF. Colonization and deterioration of soft denture lining materials in vivo. Eur J Prosthodont Restor Dent 2008; 16(2):50.

90) Verheijen R, Kuijpers HJH, Van Driel R, Beck JLM, Van Dierendonck JH, Brakenhoff GJ, Ramaekers FCS. Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen II. Localization in mitotic cells and association with chromosomes. JCell Sci 1989;92:531–540.

91) Landberg G, Tan EM, Roos G. Flow cytometric multiparameter analysis of proliferating cell nuclear antigen/cyclin and Ki-67 antigen: A new view of the cell cycle. Exp Cell Res 1990;187: 111–118.

92) Schluter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Becker MHG, Key G, Flad H-D, Gerdes J. The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: A very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins. J Cell Biol 1993;123:513–522.

93) Sjöqvist U, Ost A, Löfberg R. Increased expression of proliferative Ki-67nuclear antigen is correlated with dysplastic colorectal epithelium in ulcerative colitis. Int J Colorectal Dis. 1999 Apr;14(2):107-13)

94) Dekker A, Panfil C, Valdor M, Pennartz G, Richter H, Mittermayer CH, Kirkpatrick CJ. Quantitative methods for in vitro cytotoxicity testing of biomaterials. Cells Mater 1994;4:101–112.

ANEXO A- Parecer consubstanciado da Comissão de Ética em Pesquisa Animal

UEPG
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL

PARECER CONSUBSTANCIADO

PROCESSO Nº 12673	Data de Apresentação : 02/09/2010

O parecer consubstanciado do relator será utilizado como subsídio para a COMISSÃO elaborar seu parecer final

1 – Identificação do Projeto de Pesquisa/

Título:
Biocompatibilidade de reembasadores para base de próteses: análise histopatológica

Coordenador do Projeto:
Prof Dra Janaina Habib Jorge

Local onde será realizado:
Biotério, Laboratório de Histologia da UEPG

2 – Sumário do Projeto de Pesquisa

2.1 – Objetivos:

Avaliar a biocompatibilidade de resinas acrílicas para base de próteses e de materiais reembasadores por meio de análise histopatológica em ratos. Além disso, este estudo também tem por objetivo verificar o efeito de tratamentos térmicos, que visam diminuir a quantidade de monômero residual, sobre a biocompatibilidade desses materiais.

2.2 – Revisão Bibliográfica:

Pertinente e atual

2.3- Descrição e caracterização da amostra:

Neste estudo serão utilizados 75 ratos (*Rattus Norvergicus albinus Wistar*) com 60 dias de idade, pesando em média 270-300 gramas, obtidos do Biotério Central do Departamento de Odontologia UEPG. Esses animais serão mantidos em gaiolas, a 23ºC com 56% de umidade relativa do ar. Além disso, os animais serão alimentados com água e ração (PURINA) *ad libitum*.

2.4- Avaliação coerentemente estatística do número (N) de animais utilizados:

Os animais serão divididos em 15 grupos, de cinco animais cada, de acordo com o tipo de material a ser testado com e sem tratamento térmico.

2.5 – Adequação metodológica (Verificar a exeqüibilidade da proposta, isto é, se existe clareza do objetivo, compatibilidade entre os objetivos, a fundamentação teórica e a metodologia ou plano de ação, evidenciando consistência entre objetivos, procedimentos, ações de execução da pesquisa e capacidade do proponente, demonstrada por outros trabalhos similares.)

A metodologia está clara e compatível com os objetivos

2.5- Adequação das condições para a realização da pesquisa:

3– Parecer conclusivo, recomendações e/ou sugestões:

Considerando os protocolos apresentados sou de parecer favorável à execução da pesquisa

4– Parecer Consubstanciado

Aprovado X ☐ Aprovado com adequação do N experimental ☐ Pendências ☐ Não aprovado ☐

5– Dados Pessoais do Relator

Nome Completo: MARIA MARTA LODDI		
Telefone(s): 3222 3082	Departamento: ZOOTECNIA	
Local: PONTA GROSSA	Data: 09/12/2010	Assinatura:
Assinatura do Coordenador do CEP:	Data da reunião: / /	

Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748, CEP 84.030-900 Campus Universitário em Uvaranas
Ponta Grossa – Paraná
Bloco da Reitoria - anexo a PROPESP
Fone: (042) 3220-3264