

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM ORTODONTIA E ORTOPEDIA FACIAL

RENATO DALLA PORTA GARCIA

**EFEITOS CITOTÓXICOS E GENOTÓXICOS DAS LIGAS DE SOLDA DE PRATA EM
ORTODONTIA: REVISÃO SISTEMÁTICA**

Porto Alegre
2015

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM ORTODONTIA E ORTOPEDIA FACIAL

RENATO DALLA PORTA GARCIA

EFEITOS CITOTÓXICOS E GENOTÓXICOS DAS LIGAS DE SOLDA DE
PRATA EM ORTODONTIA: REVISÃO SISTEMÁTICA

Porto Alegre
2015

RENATO DALLA PORTA GARCIA

EFEITOS CITOTÓXICOS E GENOTÓXICOS DAS LIGAS DE SOLDA DE
PRATA EM ORTODONTIA: REVISÃO SISTEMÁTICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração: Ortodontia e Ortopedia Facial.

Orientadora: Profa Dra Luciane Macedo de Menezes

Porto Alegre
2015

Dedico este trabalho:

Aos meus pais, Beatriz Terezinha Dalla Porta Garcia e José Ronan Nunes Garcia, meus exemplos em tudo, que não mediram esforços com o seu amor e carinho, ensinando-me os valores da vida, para que eu pudesse traçar o meu próprio caminho.

Aos meus irmãos, Fernando Dalla Porta Garcia e Marcelo Dalla Porta Garcia, meus melhores amigos, que com o seu companheirismo e carinho me fizeram cada vez mais feliz.

À minha avó Maria Antônia Barin Dalla Porta, pelas suas palavras sábias compartilhadas, carinho, amor e ensinamentos da escola da vida.

A toda minha família, que sempre foi motivo de união e cumplicidade, através do amor de todos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e iluminar o meu caminho.

À Profa. Dra. Luciane Macedo de Menezes pela sua orientação e condução desta dissertação, sempre dedicada nos ensinamentos e incentivo à pesquisa.

Ao Prof. Dr. Eduardo Martinelli Santayana de Lima, pelos exemplares ensinamentos transmitidos, à sua grande amizade e companheirismo, o que sempre proporcionou um convívio alegre e agradável de todo o grupo da Pós-Graduação da Ortodontia.

Aos Profs. Dr. Ernani Menezes Marchioro e Dr. Telmo Bandeira Berthold, pela agradável convivência e pelos conhecimentos compartilhados.

Aos amigos e colegas da Pós-Graduação da Ortodontia, pela troca diária de experiências, pelo ótimo convívio e principalmente pela amizade. Em especial à colega Mariana Ronneau Lemos Rinaldi e à Profa. Dra. Tatiana Siqueira Gonçalves por terem participado diretamente na elaboração desta dissertação, sempre muito prestativas, pela troca de conhecimentos e amizade.

À Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, por ter possibilitado a realização desta etapa de minha formação.

À Profa. Dra. Anna Maria Spohr e ao Prof. Dr. Alexandre Bahlis, pela competência e organização das estruturas da Pós-Graduação e Faculdade de Odontologia da PUCRS.

Aos alunos da Graduação da Faculdade de Odontologia da PUCRS, por participarem do meu crescimento profissional e pessoal.

Aos funcionários em geral da Faculdade de Odontologia da PUCRS pela disposição no dia a dia.

À CAPES, pelo suporte financeiro e por proporcionar o desenvolvimento desta pesquisa.

A todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho e com a minha formação.

RESUMO

Foi realizada uma revisão sistemática dos efeitos citotóxicos e genotóxicos das ligas de solda de prata em Ortodontia. Para tanto, foi efetuada uma busca sistemática nas bases de dados PubMed, EMBASE, Web of Science e Biblioteca Cochrane. Foi pesquisado na literatura cinza os anais da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica (SBPqO) e os encontros anuais da *American Association of Orthodontists* (AAO). Os artigos encontrados foram submetidos a um critério de seleção e elegibilidade por dois pesquisadores de maneira cega e independente. Após a seleção dos estudos, uma busca manual foi realizada nas referências destes e foram extraídos os dados dos estudos através de fichas padronizadas. Foram encontrados no total 76 artigos. Destes, 64 foram excluídos, pois não preencheram os critérios de elegibilidade. Os 12 estudos remanescentes foram selecionados para o presente trabalho. Além disso, outros três artigos foram incluídos através da busca manual. Dois artigos encontrados na literatura cinza foram excluídos, pois eram repetidos. O nível de concordância entre os pesquisadores na seleção dos estudos foi considerado adequado ($\kappa=0,916$) e para a elegibilidade dos estudos foi muito preciso ($\kappa=1$). Após avaliação dos dados extraídos concluiu-se que ligas de solda de prata podem provocar efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos.

Unitermos: Revisão Sistemática, Ortodontia, Citotoxicidade, Genotoxicidade

ABSTRACT

A systematic review was performed on the cytotoxic and genotoxic effects of silver solder alloys in orthodontics. The search was conducted through medical databases, PubMed, EMBASE, Web of Science and Cochrane Library. The search of gray literature included the annals of the meetings of the Brazilian Society for Dental Research (SBPqO) and of the American Association of Orthodontists (AAO). The articles found were submitted to selection criteria and eligibility by two independent blind researchers. Afterwards, a manual search was conducted on articles's references and study data were extracted by standardized forms. Sixty-four out of 76 articles were excluded because they did not reach the eligibility criteria. The remaining 12 articles and 3 other raised from manual search were included in this study. Two articles found on gray literature were repeated, though excluded. The level of agreement between researchers was adequate in the selection criteria ($\kappa = 0.916$) and very precise for the eligibility ($\kappa = 1$). As a conclusion of the systematic review, the silver solder alloy may cause cytotoxic, mutagenic and genotoxic effects when applied on orthodontic treatment.

Key words: Systematic Review, Orthodontics, Cytotoxicity, Genotoxicity.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Estragégia de busca PubMed	15
Quadro 2. Estratégia de busca Web of Science.....	15
Quadro 3. Estratégia de busca Biblioteca EMBASE	16
Quadro 4. Estratégia de busca Biblioteca Cochrane.....	16
Quadro 5. Descrição dos estudos que preencheram os critérios de seleção...	23

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
3. METODOLOGIA	13
3.1 Estratégia de busca.....	13
3.1.1 Busca principal	13
3.1.2 Literatura cinza.....	14
3.1.3 Busca manual.....	17
3.2 Seleção dos estudos	17
3.3 Elegibilidade dos estudos.....	18
3.4 Extração de dados	18
4. RESULTADOS	19
5. DISCUSSÃO	26
6. CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30
APÊNDICE 1 Ficha de Elegibilidade.....	32
APÊNDICE 2 Ficha de extração de dados.....	33
ANEXOS	35

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas houve uma grande evolução na Odontologia mundial em relação à biocompatibilidade dos materiais utilizados, principalmente dos metais, nas diversas especialidades. Dentre elas, a Ortodontia, que objetiva a correção das má-oclusões, também tem o cuidado de proporcionar saúde, sem expor os indivíduos a situações que possam prejudicá-los. A seleção do biomaterial utilizado em uma determinada terapia deve ser baseada na segurança de que os benefícios se sobreporão aos riscos biológicos, sem causar efeitos locais ou sistêmicos nos indivíduos(1).

A biocompatibilidade se refere à capacidade de um biomaterial de realizar sua função desejada, no que diz respeito a uma terapia médica, sem provocar quaisquer efeitos locais ou sistêmicos indesejados no destinatário ou beneficiário da terapia, a fim de otimizar o desempenho clínico de uma determinada intervenção terapêutica para gerar o mais apropriado benefício celular ou resposta tecidual (2). Um dos fatores determinantes da biocompatibilidade dos metais é a resistência à corrosão (3). A corrosão ocorre a partir da perda de qualquer íon metálico diretamente para uma solução ou da dissolução progressiva de uma superfície (4). A opção clínica por usar acessórios que apresentem menor biodegradação reduz o risco de danos à saúde do paciente, uma vez que estes tendem a liberar menos íons metálicos para o meio intrabucal (5).

Diversos aparelhos ortodônticos auxiliares e fixos possuem união de solda de prata na sua composição. O ambiente bucal caracteriza-se por extremos, pois pode variar a temperatura e/ou o pH de forma abrupta (6).

Quando os aparelhos ortodônticos são expostos à cavidade oral ficam sujeitos ao fenômeno eletroquímico da corrosão (7), devido a variações químicas, físicas e biológicas (8, 9). A toxicidade das ligas pode ser aumentada em condições intraorais comuns, tais como menor pH e escovação com cremes dentais (4). Na prática clínica, evidencia-se que a presença, em longo prazo, de metais no ambiente bucal pode ser prejudicial a saúde. Tem sido relatado que os aparelhos ortodônticos podem causar ulcerações na mucosa, irritações e alergias graves ao níquel especialmente quando associados à união de soldas de prata (10-14). A liga de solda de prata é composta principalmente por cobre, prata e zinco, os quais são liberados para o ambiente bucal em presença de corrosão e podem também aumentar a liberação de outros íons presentes na união metálica, como níquel e cromo (15).

Nas últimas décadas, ensaios de genotoxicidade e citotoxicidade ganharam aceitação como indicadores importantes e úteis na avaliação da biocompatibilidade de determinados materiais. Testes *in vitro* e *in vivo* são destinados a detectar compostos que induzem à citotoxicidade e danos ao DNA e aos cromossomos. Entretanto, ainda são restritos os estudos *in vitro* e ainda menos frequentes os estudos *in vivo* sobre a liga de solda de prata, deixando diversas perguntas sem respostas quanto à toxicidade desta liga.

Portanto, tendo em vista o amplo uso de aparelhos ortodônticos que possuem na sua composição a solda de prata, realizou-se uma revisão sistemática sobre os efeitos biológicos (citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos) das ligas de solda de prata utilizadas em aparelhos ortodônticos.

2 OBJETIVOS

Realizar uma revisão sistemática sobre os possíveis efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos das ligas de solda de prata utilizadas em aparelhos ortodônticos.

3 METODOLOGIA

A busca sistemática foi realizada em meios eletrônicos e meios impressos que reportavam o tema “efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos das ligas de solda de prata utilizadas em aparelhos ortodônticos”.

As bases de dados utilizadas para busca de artigos foram: PubMed, EMBASE, Web of Science e Biblioteca Cochrane. Na estratégia de busca, foi realizada uma pesquisa na literatura nos idiomas em inglês e português, não havendo restrição quanto ao ano da publicação. Foram utilizadas palavras-chaves e operadores booleanos “ou” (OR) e “e” (AND) para a combinação de termos (tesauros ou palavras texto) relacionados à ortodontia e ligas de solda de prata.

3.1 Estratégia de busca

3.1.1 Busca principal

As palavras-chave foram determinadas por meio de palavras que reportassem ao tema, através da busca dos termos MeSH e os termos sinônimos (*entry terms*) destas palavras-chave. Com isso, foram feitas

combinações dos termos, através dos operadores booleanos para a estratégia de busca.

As combinações das palavras-chave e os resultados das buscas nas quatro bases de dados consultadas estão apresentados nas Quadros 1, 2, 3 e 4, páginas 15 e 16.

3.1.2 Literatura cinza

A busca foi realizada para encontrar estudos não publicados ou publicados em revistas não indexadas nas principais bases de dados. Assim, a procura foi efetuada nos seguintes meios:

- Anais da “Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica (SBPqO)” – promovida pela Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, e dos encontros anuais da “*American Association of Orthodontists (AAO)*” – promovido pela “*American Association of Orthodontists*”.

Caso fosse necessário, os autores dos resumos dos Anais seriam contatados para informações sobre os resultados dos estudos.

Quadro 1 – Estratégia de busca PubMed

Busca	Termos	Resultados
1	orthodontics, orthodontic appliances OR appliance, orthodontic OR appliances, orthodontic OR orthodontic appliance	21239
2	silver and soldering OR silver OR silver and alloy OR dental soldering OR soldering, dental OR (cadmium and dental soldering) OR (copper and dental soldering) OR (zinc and dental soldering) OR (chrome and dental soldering OR (aluminium and dental dental soldering)	70577
3	adverse effects OR toxicity OR toxic potential OR margin of safety OR cytotoxicity tests, immunological OR cytotoxicity test, immunological OR immunologic cytotoxicity tests OR immunologic cytotoxicity tests OR immunologic cytotoxicity tests OR cytotoxicity test, immunologic OR immunologic cytotoxicity tests OR materials testing OR testing, materials OR testing, biocompatible materials OR materials testing, biocompatible OR biocompatible materials testing OR biocompatibility testing OR testing, biocompatibility OR testings, biocompatibility	2035441
4	mutagenicity test OR toxicity tests, genetic OR mutagen screening OR mutagen screenings OR screening, mutagen OR screenings, mutagen OR tests, genetic Toxicity OR genetic toxicity test OR toxicity test, genetic OR genetic toxicity tests OR genotoxicity tests OR genotoxicity test OR test, genotoxicity OR tests, genotoxicity	3378
5	1,2 e 3	50
6	1,2 e 4	1
7	1, 2, 3 e 4	1

Quadro 2 – Estratégia de busca Web of Science

Busca	Termos	Resultados
1	orthodontics, orthodontic appliances OR appliance, orthodontic OR appliances, orthodontic OR orthodontic appliance	4531
2	silver and soldering OR silver OR silver and alloy OR dental soldering OR soldering, dental OR (cadmium and dental soldering) OR (copper and dental soldering) OR (zinc and dental soldering) OR (chrome and dental soldering OR (aluminium and dental dental soldering)	303.010
3	adverse effects OR toxicity OR toxic potential OR margin of safety OR cytotoxicity tests, immunological OR cytotoxicity test, immunological OR immunologic cytotoxicity tests OR immunologic cytotoxicity tests OR immunologic cytotoxicity tests OR cytotoxicity test, immunologic OR immunologic cytotoxicity tests OR materials testing OR testing, materials OR testing, biocompatible materials OR materials testing, biocompatible OR biocompatible materials testing OR biocompatibility testing OR testing, biocompatibility OR testings, biocompatibility	1.037.293
4	mutagenicity test OR toxicity tests, genetic OR mutagen screening OR mutagen screenings OR screening, mutagen OR screenings, mutagen OR tests, genetic Toxicity OR genetic toxicity test OR toxicity test, genetic OR genetic toxicity tests OR genotoxicity tests OR genotoxicity test OR test, genotoxicity OR tests, genotoxicity	14870
5	1,2 e 3	18
6	1,2 e 4	1
7	1, 2, 3 e 4	1

Quadro 3 – Estratégia de busca EMBASE

Busca	Termos	Resultados
1	orthodontics, orthodontic appliances OR appliance, orthodontic OR appliances, orthodontic OR orthodontic appliance	3972
2	silver and soldering OR silver OR silver and alloy OR dental soldering OR soldering, dental OR (cadmium and dental soldering) OR (copper and dental soldering) OR (zinc and dental soldering) OR (chrome and dental soldering OR (aluminium and dental dental soldering)	314
3	adverse effects OR toxicity OR toxic potential OR margin of safety OR cytotoxicity tests, immunological OR cytotoxicity test, immunological OR immunologic cytotoxicity tests OR immunologic cytotoxicity tests OR immunologic cytotoxicity tests OR cytotoxicity test, immunologic OR immunologic cytotoxicity tests OR materials testing OR testing, materials OR testing, biocompatible materials OR materials testing, biocompatible OR biocompatible materials testing OR biocompatibility testing OR testing, biocompatibility OR testings, biocompatibility	3240
4	mutagenicity test OR toxicity tests, genetic OR mutagen screening OR mutagen screenings OR screening, mutagen OR screenings, mutagen OR tests, genetic Toxicity OR genetic toxicity test OR toxicity test, genetic OR genetic toxicity tests OR genotoxicity tests OR genotoxicity test OR test, genotoxicity OR tests, genotoxicity	8774
5	1,2 e 3	0
6	1,2 e 4	4
7	1, 2, 3 e 4	0

Quadro 4 – Estratégia de busca Biblioteca *Cochrane*

Busca	Termos	Resultados
1	orthodontics, orthodontic appliances OR appliance, orthodontic OR appliances, orthodontic OR orthodontic appliance	1160
2	silver and soldering OR silver OR silver and alloy OR dental soldering OR soldering, dental OR (cadmium and dental soldering) OR (copper and dental soldering) OR (zinc and dental soldering) OR (chrome and dental soldering OR (aluminium and dental dental soldering)	2493
3	adverse effects OR toxicity OR toxic potential OR margin of safety OR cytotoxicity tests, immunological OR cytotoxicity test, immunological OR immunologic cytotoxicity tests OR immunologic cytotoxicity tests OR immunologic cytotoxicity tests OR cytotoxicity test, immunologic OR immunologic cytotoxicity tests OR materials testing OR testing, materials OR testing, biocompatible materials OR materials testing, biocompatible OR biocompatible materials testing OR biocompatibility testing OR testing, biocompatibility OR testings, biocompatibility	151112
4	mutagenicity test OR toxicity tests, genetic OR mutagen screening OR mutagen screenings OR screening, mutagen OR screenings, mutagen OR tests, genetic Toxicity OR genetic toxicity test OR toxicity test, genetic OR genetic toxicity tests OR genotoxicity tests OR genotoxicity test OR test, genotoxicity OR tests, genotoxicity	283
5	1,2 e 3	2
6	1,2 e 4	0
7	1, 2, 3 e 4	0

3.1.3 Busca manual

Após a inclusão dos artigos, as referências bibliográficas dos mesmos foram avaliadas na tentativa de se encontrar estudos não localizados através dos meios mencionados.

3.2 Seleção dos estudos

A busca sistemática foi realizada por dois pesquisadores (RG e MR) de maneira independente. Os estudos foram selecionados, primeiramente, baseado-se no título e no resumo. Para que um estudo fosse incluído no presente trabalho, os seguintes critérios deveriam ser preenchidos:

- Ser um estudo que avaliasse solda de prata em ortodontia;
- Ser *in vitro* e/ou *in vivo*;
- Possuir testes de efeitos citotóxicos, genotóxicos e/ou mutagênicos das ligas de solda de prata.

Os artigos que não preencheram os critérios de inclusão foram excluídos da análise, e quando houve discordância dos dois pesquisadores quanto à seleção de um artigo o estudo foi selecionado para leitura na íntegra.

Se houvesse mais de um artigo com a mesma amostra seria incluído o artigo com a maior amostra. Artigos duplicados, encontrados em mais de uma base de dados, seriam excluídos e mantido apenas um.

Os artigos que passaram pela primeira seleção através da avaliação dos títulos e resumos tiveram a sua elegibilidade avaliada.

O nível de concordância entre os dois pesquisadores foi testado pelo teste kappa (k), que apresentou um valor de $K=0,916$.

3.3 Elegibilidade dos estudos

Os mesmos dois pesquisadores cegados quanto ao título, resumo, autoria e origem do artigo checaram a elegibilidade dos estudos. Para que um artigo fosse incluído no estudo, criou-se uma ficha de critérios (Apêndice 1). Caso houvesse discordância entre os dois pesquisadores quanto à elegibilidade dos estudos, o mesmo seria discutido com dois pesquisadores mais experientes (TSG e LM).

Os estudos que não preencheram os critérios de elegibilidade foram excluídos da análise. Nestes casos, foram reportados os motivos da exclusão.

O nível de concordância entre os dois pesquisadores (RG e MR) foi testado pelo teste kappa (k), que apresentou um valor de $K=1$.

3.4 Extração de dados

Após os artigos passarem pelos critérios de elegibilidade e serem incluídos na revisão sistemática, os dois pesquisadores cegados quanto ao título, resumo, autoria e origem do artigo realizaram a extração dos dados.

Os dados metodológicos e os resultados foram extraídos através de fichas de extração de dados padronizadas (Apêndice 2 – fichas A e B). Caso houvesse discordância entre os dois pesquisadores, o estudo seria discutido com um terceiro pesquisador mais experiente (TSG). Se, ainda, houvesse dúvidas, o autor do estudo seria contatado por correio eletrônico.

4 RESULTADOS

As estratégias de busca principal e da literatura cinza foram realizadas pela última vez no dia 22 de Novembro de 2014. A busca manual foi realizada após a inclusão dos estudos.

O total de estudos encontrados, em todas as bases consultadas, foi de 76. Após a leitura do título e resumo, dois estudos foram excluídos por serem repetidos, e 64 estudos foram removidos por não preencherem os critérios de elegibilidade propostos.

Os 12 estudos remanescentes, que preencheram os critérios de inclusão, mais três selecionados manualmente nas referências bibliográficas de outros estudos, estão relacionados no Quadro 5. Este quadro também mostra uma breve descrição da abordagem dos estudos selecionados: qual o tipo de cultura celular utilizada, a apresentação do material que foi testado, e qual os ensaios empregados para análise de citotoxicidade celular.

O fluxograma do estudo é apresentado, na Figura 1, demonstrando cada etapa da revisão sistemática, com respectivo número de artigos.

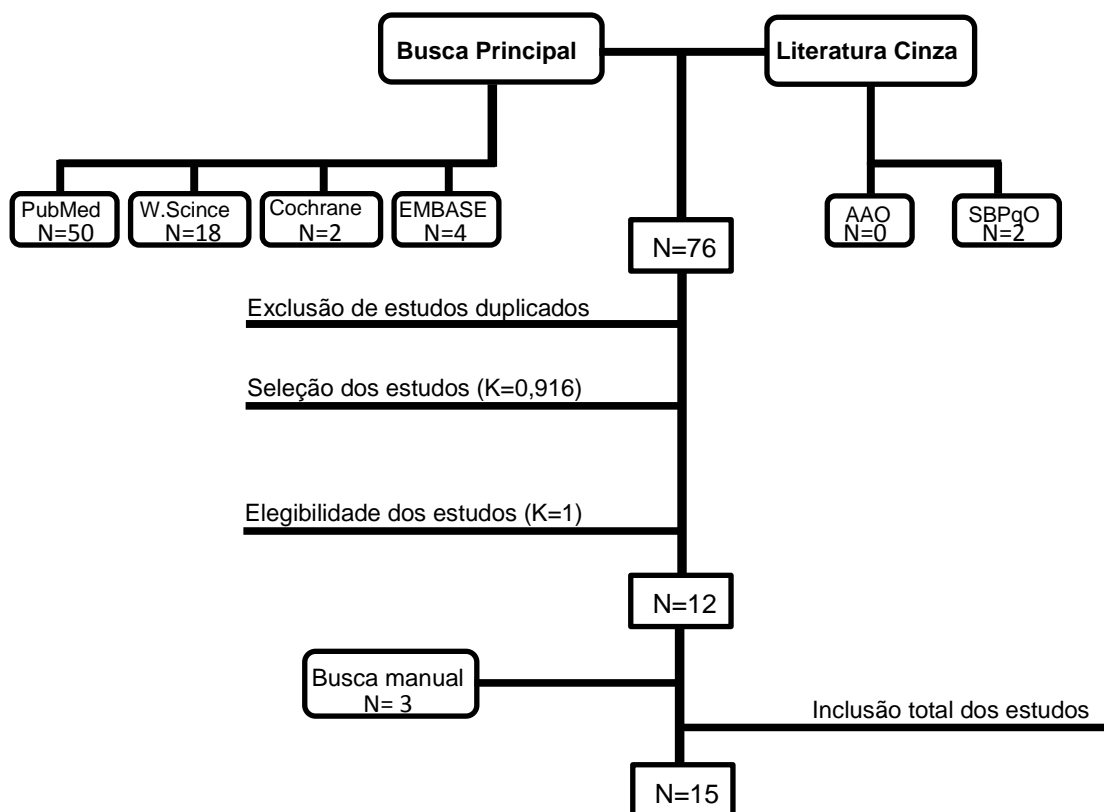


Figura 1 – Fluxograma das etapas da revisão sistemática

Quadro 5 – Descrição dos estudos que preencheram os critérios de seleção e foram incluídos para a Revisão

Autores	Ano	Material testado	Cultura celular utilizada	Ensaio de citotoxicidade
Gonçalves TS, Menezes LM, Trindade C, Machado M da S, Thomas P, Fenech M et al.	2014	Bandas ortodônticas com e sem solda prata	HepG2 HOK	Micronúcleos MTT Cometa
Gonçalves, TS, Menezes LM, Ribeiro, LG, Lindholz, CG, Medina-Silva, R.	2014	Bandas ortodônticas sem solda e com solda a laser ou solda prata	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (FF18733)	Curva de sobrevivência
Limberger KM, Westphalen GH, Menezes LM, Medina-Silva R.	2011	<i>brackets</i> , Fios de aço, resina para colagem, elastômeros e solda prata	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (FF18733)	Experimento de sobrevivência
Freitas MP, Oshima HM, Menezes LM, Machado DC, Viezzer C.	2009	Fios de aço, amálgama e solda prata	Fibroblastos de camundongo (NIH:3T3)	Índice do tamanho do halo e lise celular
Pithon MM, Santos RL, Martins FO, Nascimento LEAG, Azevedo ARP, Torres SR et al.	2009	Segmentos fios soldados: aço inoxidável com aço inoxidável, com e sem acabamento; aço inoxidável com latão, com e sem acabamento	Fibroblastos de camundongo (L929)	Viabilidade celular Vermelho Neutro
Vande Vannet B, Hanssens JL, Wehrbein H.	2007	Solda ponto, solda laser, solda prata, fio aço inoxidável, fio cobre	Epitélio oral humano reconstituído	Mudanças morfológicas (leve/moderada,severa) MTT
Sestini S, Notarantonio L, Cerboni B, Alessandrini C, Fimiani M, Nannelli P et al	2006	Dois tipos de fios de aços, fio de níquel puro e de cromo; soldagem elétrica, a laser e de prata	Osteoblastos (SaOS-2), cultura primária de fibroblastos de pele e cultura primária de queratinócitos orais	Atividade de fosfatase alcalina Viabilidade celular em proliferação

Pianigiani E, Andreassi A, Lorenzini G, Alessandrini C, Fimiani M, Atrei A et al	2004	Fio de aço inoxidável e fio de aço inoxidável com solda prata	Modelo de epitélio reconstituído tridimensional e monocultura de fibroblastos humanos	Azul de Toluidina Vermelho Neutro
Cortizo MC, De Mele MF, Cortizo AM.	2004	Ag, Au, Pt, Pd, Cu - puros, NiTi	Células de osteosarcoma de ratos (UMR 106)	Espectrofotometria de absorção atômica Atividade de fosfatase alcalina
Solmi R, Martini D, Zanarini M, Isaza Penco S, Rimondini L, Carinci P et al	2004	Arcos linguais soldados a prata ou a laser	Fibroblastos primários de papila interdental humana	Adesão, morfologia e proliferação celular
Mockers O, Deroze D, Camps J.	2002	Bandas ortodônticas com e sem solda prata Brackets de aço inoxidável, de policarbonato e de cerâmica fio de aço inoxidável, Ti, NiTi, TiMo	Fibroblastos de camundongos (L929)	MTT
Locci P, Marinucci L, Lilli C, Belcastro S, Staffolani N, Bellocchio S et al	2000	Discos de aço inoxidável 316, 304 e 304 recobertos por liga de Ag, Cu e Pd	Fibroblastos gengivais humanos	Proliferação celular e análise morfológica
Wataha JC, Malcon CT, Hanks CT	1995	Discos de ligas de metais altamente nobres, metais nobres e ligas de prata	Fibroblastos de camundongo (Balb/c 3T3)	MTT
Wataha JC, Hanks CT, Sun Z.	1994	Íons metálicos	Fibroblastos de camundongo (NIH:3T3, L929), de humanos (WI-38), e osteoblastos de rato (ROS17/2.8)	Atividade da Desidrogenase Succínica (SDH)
Grimsdottir MR, Hensten-Pettersen A.	1993	Aparelhos fixos com e sem acessórios soldados com liga de prata	Fibroblastos de camundongos	Índice de zona e lise celular afetada

Os estudos que preencheram os critérios de inclusão apresentaram diferentes materiais metálicos a serem avaliados. Dos 15 estudos, seis (16-21) utilizaram fios ortodônticos (NiTi, aço inoxidável, Cr, TiMo, Ti) como recebidos, tanto como amostras para ensaio, quanto para grupos controle. Em cinco estudos (17, 20, 22-24) foram adotados fios soldados como grupos testes, os quais eram soldados com solda de prata (17, 20, 22-24), ou solda a ponto (23, 24), ou solda a laser (23, 24).

Outro material metálico analisado foi a banda de aço inoxidável, a qual foi avaliada como recebida (19, 25, 26), ou com realização de soldagem com solda de prata (15, 19, 21, 25, 26), ou com soldagem a laser (15, 25). Em apenas três estudos (16, 19, 21) foram avaliados *brackets*, sendo que os três utilizaram *brackets* de aço inoxidável e apenas um (19) também avaliou *brackets* de composições diferentes (Ti puro e aço inoxidável banhado a ouro).

Outra forma de apresentação do material de dois estudos foi através da confecção de discos. Um estudo (27) criou discos de aço inoxidável 316 (16-18% Cr e 10-14%Ni) e discos de aço inoxidável 304, os quais foram recobertos com uma liga de solda (15% Pd, 20% Cu, 65% Ag); e o outro estudo (28) confeccionou discos de ligas metálicas altamente nobres, de ligas nobres e de ligas de prata.

É sabido que a solda de prata é, geralmente, a liga metálica de preferência para união de acessórios ortodônticos (2, 17, 19, 29). Porém, a solda de prata contém íons (Ag, Cu, Zn) com grande tendência a serem liberados quando utilizados na cavidade bucal (30), podendo ter efeitos citotóxicos e resultando na diminuição da viabilidade celular (19). Estes

materiais permanecem na cavidade bucal por longos períodos e estão sujeitos ao fenômeno de corrosão, o qual provoca a liberação de substâncias (31, 32) que podem interagir com os tecidos dos pacientes (33).

Atualmente, vários ensaios de culturas celulares *in vitro* podem ser utilizados a fim de avaliar a citotoxicidade dos materiais odontológicos (17, 19, 29, 34). Os estudos selecionados na revisão sistemática avaliaram a citotoxicidade da solda de prata de diferentes maneiras: seis estudos (15, 20, 23, 24, 26, 27) utilizaram teste *in vitro* de culturas celulares humanas; seis estudos (17-19, 21, 22, 28) utilizaram teste *in vitro* de culturas celulares de animais; dois estudos (16, 25) utilizaram teste *in vitro* de culturas de leveduras; e um estudo (35) utilizou mais de um tipo de teste. A cultura primária de fibroblasto humano foi utilizada em quatro estudos, sendo que em três deles (15, 20, 27) a origem celular era de mucosa bucal, e de um (23) a origem era de fibroblastos de pele humana. Em quatro estudos (20, 23, 24, 26) foram utilizados queratinócitos orais, sendo que a maioria utilizou o modelo de epitélio humano reconstituído (20, 23, 24). Um estudo (18) avaliou células de osteosarcoma de ratos. Quatro estudos utilizaram células de fibroblastos de camundongo (17, 21, 22, 28). Porém, somente Grimsdottir e Henstern-Pettersen (21) não especificaram a linhagem de camundongo utilizada. Os dois estudos (16, 25) que avaliaram leveduras utilizaram *Saccharomyces cerevisiae*.

Os trabalhos da revisão sistemática utilizaram diferentes ensaios para avaliar a citotoxicidade dos materiais analisados. Três estudos (24, 26, 28) realizaram ensaios de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio). Dois estudos (16, 25) avaliaram a análise de sobrevivência de leveduras. Três estudos (17, 21) utilizaram índice de tamanho do halo formado

ao redor da espécime testada, e quantidade de lise celular. O teste do vermelho neutro foi utilizado em dois estudos (20, 22), assim como a atividade da fosfatase alcalina, utilizada nos estudos de Sestini *et al.*, e Cortizo, De Mele e Cortizo. Dois estudos (16, 25) que utilizaram cultivo de leveduras analisaram a sobrevivência dos experimentos. Já Locci *et al.* (27), Solmi *et al.* (15), Sestini *et al.* (23) e Cortizo, De Mele e Cortizo (18) avaliaram a citotoxicidade através de ensaios de viabilidade, proliferação e morfologia celular. Outro ensaio utilizado foi o azul de toluidina (20).

Quanto ao tratamento celular utilizado nos estudos foi verificado que: três estudos (22, 26, 28) realizaram os testes através de contato das células com extratos oriundos do meio de cultura em contato com as ligas, dois estudos (16, 25) utilizaram nas leveduras o contato indireto de saliva artificial contendo eluídos metálicos, e dez estudos (15, 17-21, 23, 24, 27, 35) realizaram o contato direto do material dentário sobre a cultura celular.

Apenas um estudo (26) avaliou a mutagenicidade celular, por meio de testes cometa e micronúcleos.

O Quadro 5 mostra uma breve descrição da abordagem dos estudos selecionados: qual o tipo de cultura celular utilizada, a apresentação do material que foi testado, e qual os ensaios empregados para análise de citotoxicidade celular.

5 DISCUSSÃO

Embora a solda de prata esteja presente em diversos materiais ortodônticos, poucos estudos têm investigado sua citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade. Na presente revisão sistemática, apesar de todos os trabalhos incluídos terem avaliado a citotoxicidade da solda de prata, a comparação e interpretação dos resultados obtidos torna-se complexa em vista da utilização de diferentes metodologias.

A Organização Internacional para Padronização (*International Organization for Standardization*) (ISO) 10993 possui um conjunto de normas para avaliar a biocompatibilidade de dispositivos utilizados na saúde. De acordo com a ISO 10993, o ensaio de citotoxicidade *in vitro* é o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material para uso em dispositivos biomédicos. Depois de comprovada a sua não toxicidade, o estudo da biocompatibilidade do produto pode ter continuidade.

Uma das determinações da ISO corresponde à maneira de proceder aos testes. O número de réplicas das amostras testadas deve ser no mínimo em triplicata. No presente trabalho foi verificado que nove (16, 18, 19, 22-26, 28) estudos vão ao encontro da ISO. Diferentes destes, os demais estudos não estão de acordo com a ISO, pois um (20) deles foi realizado em duplicata, e os outros cinco (15, 17, 21, 27, 35) não informaram quantas vezes os testes foram repetidos.

Da mesma forma, a ISO 10993-5:2009 recomenda que o período de incubação das espécimes deve ser de pelo menos 24h para se determinar os seus efeitos citotóxicos. Neste estudo verificou-se que apenas Grimsdottir e

Hensten-Pettersen (21) não relataram qual o tempo utilizado para avaliação dos materiais testados em seus trabalhos. Gonçalves *et al.* em um dos seus testes para citotoxicidade utilizaram um período de apenas 3h. Entretanto, justificaram esta necessidade devido à baixa viabilidade celular proporcionada com o ensaio realizado depois de 24h de exposição. Os outros 13 estudos estavam de acordo com a ISO.

Atualmente, muitos testes de culturas celulares *in vitro* têm sido utilizados para avaliar a citotoxicidade dos materiais odontológicos. Dentre estes testes, alguns produzem resultados semelhantes, enquanto outros revelam achados diversos ou até opostos (17, 19, 29, 34). Os pesquisadores recorrem a fontes reconhecidas para adquirirem diferentes linhagens celulares, seguindo as orientações da *American Dental Association* (ADA) da ISO 10993 (35).

Na presente revisão sistemática pode-se observar que diferentes tipos de culturas celulares foram utilizados para a realização dos estudos: leveduras de *Saccharomyces cerevisiae* (16, 25); fibroblastos de camundongos linhagens NIH:3T3 (17), L929 (19, 22, 35), Balb/c 3T3 (28, 35), e osteosarcoma de ratos linhagem UMR 106; queratinócitos orais humanos (20, 23, 24, 26); cultura primária de fibroblastos humanos, um estudo (23) de origem de pele humana e outros três (15, 20, 27) com origem de mucosa bucal; células de carcinoma hepatocelular humano (26); e células de osteoblastos linha SaOS-2 (23).

O epitélio oral é o principal local de interação entre as células e as ligas metálicas. Dessa forma, torna-se importante a realização de estudos *in vitro* com linhagens de células as quais tenham comportamentos semelhantes às da

cavidade bucal. Portanto, preferencialmente, os estudos com células humanas deveriam ser prioritários. Em 13% dos artigos, que preencheram os critérios de inclusão, foram utilizados epitélios reconstituídos obtidos da mucosa oral humana, os quais tem propriedades morfofuncionais similares às membranas *in vivo*. Mucosa oral artificial tem sido utilizada para estudos farmacológicos, uma vez que demonstrou padrões de diferenciação de queratinócitos imitando a mucosa *in vivo* (36). Este tipo de modelo de cultura é considerado bastante fiel ao microambiente bucal.

No presente trabalho pode-se perceber a grande variedade de metodologias aplicadas com o uso de diferentes testes para avaliação de citotoxicidade, assim como o uso de diversas linhagens celulares. Isso pode determinar um risco de viés, em função da heterogeneidade das pesquisas. Mais estudos deveriam ser realizados para se determinar um modelo experimental ideal ou que se aproxime a estudos *in vivo*, a fim de confirmar os possíveis efeitos do longo contato das ligas de solda de prata na cavidade oral durante o tratamento ortodôntico. Da mesma forma, materiais alternativos às ligas de solda de prata, que apresentem uma maior biocompatibilidade, deveriam ser investigados para futura fabricação de aparelhos ortodônticos.

6. CONCLUSÃO

Com base na revisão sistemática da literatura, pode-se concluir que, *in vitro*, as ligas de solda de prata provocaram efeitos citotóxicos. O único estudo que avaliou genotoxicidade celular *in vitro* demonstrou que as ligas de solda prata podem produzir efeitos genotóxicos.

REFERÊNCIAS

1. Anusavice KJ, Phillips RW. Phillips' science of dental materials. 10th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1996.
2. Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*. 2008 Jul;29(20):2941-53.
3. Wataha JC, Lockwood PE, Noda M, Nelson SK, Mettenburg DJ. Effect of toothbrushing on the toxicity of casting alloys. *J Prosthet Dent*. 2002 Jan;87(1):94-8.
4. House K, Sernetz F, Dymock D, Sandy JR, Ireland AJ. Corrosion of orthodontic appliances--should we care? *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2008 Apr;133(4):584-92.
5. Dolci GS, Menezes LMd, Souza RMd, Dedavid BA. Biodegradação de braquetes ortodônticos: avaliação da liberação iônica in vitro. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial*. 2008;13:77-84.
6. St John KR. Biocompatibility of dental materials. *Dent Clin North Am*. 2007 Jul;51(3):747-60, viii.
7. Danaei SM, Safavi A, Roeinpeikar SM, Oshagh M, Iranpour S, Omidekhoda M. Ion release from orthodontic brackets in 3 mouthwashes: an in-vitro study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011 Jun;139(6):730-4.
8. Hafez HS, Selim EM, Kamel Eid FH, Tawfik WA, Al-Ashkar EA, Mostafa YA. Cytotoxicity, genotoxicity, and metal release in patients with fixed orthodontic appliances: a longitudinal in-vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011 Sep;140(3):298-308.
9. Eliades T, Bourauel C. Intraoral aging of orthodontic materials: the picture we miss and its clinical relevance. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2005 Apr;127(4):403-12.
10. Bishara SE. Oral lesions caused by an orthodontic retainer: a case report. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1995 Aug;108(2):115-7.
11. Marigo M, Nouer DF, Genelhu MC, Malaquias LC, Pizziolo VR, Costa AS, et al. Evaluation of immunologic profile in patients with nickel sensitivity due to use of fixed orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2003 Jul;124(1):46-52.
12. Kvam E, Bondevik O, Gjerdet NR. Traumatic ulcers and pain in adults during orthodontic treatment. *Community Dentistry Oral Epidemiol*. 1989 Jun;17(3):154-7.
13. Kalimo K, Mattila L, Kautiainen H. Nickel allergy and orthodontic treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol: JEADV*. 2004 Sep;18(5):543-5.
14. Schultz JC, Connelly E, Glesne L, Warshaw EM. Cutaneous and oral eruption from oral exposure to nickel in dental braces. *Dermatitis*. 2004 Sep;15(3):154-7.
15. Solmi R, Martini D, Zanarini M, Isaza Penco S, Rimondini L, Carinci P, et al. Interactions of fibroblasts with soldered and laser-welded joints. *Biomaterials*. 2004 Feb;25(4):735-40.
16. Limberger KM, Westphalen GH, Menezes LM, Medina-Silva R. Cytotoxicity of orthodontic materials assessed by survival tests in *Saccharomyces cerevisiae*. *Dent Mater*. 2011 May;27(5):e81-6.
17. Freitas MP, Oshima HM, Menezes LM, Machado DC, Viezzer C. Cytotoxicity of silver solder employed in orthodontics. *Angle Orthod*. 2009 Sep;79(5):939-44.
18. Cortizo MC, De Mele MF, Cortizo AM. Metallic dental material biocompatibility in osteoblastlike cells: correlation with metal ion release. *Biol Trace Elem Res*. 2004 Aug;100(2):151-68.

19. Mockers O, Deroze D, Camps J. Cytotoxicity of orthodontic bands, brackets and archwires in vitro. *Dent Mater.* 2002 Jun;18(4):311-7.
20. Pianigiani E, Andreassi A, Lorenzini G, Alessandrini C, Fimiani M, Atrei A, et al. Evaluation of biocompatibility of metallic dental materials in cell culture model. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol.* 2004 May-Dec;46(2-3):63-71.
21. Grimsdottir MR, Hensten-Pettersen A. Cytotoxic and antibacterial effects of orthodontic appliances. *Scand J Dent Res.* 1993 Aug;101(4):229-31.
22. Pithon MM, Santos RL, Martins FO, Nascimento LE, Azevedo AR, Torres SR, et al. Cytotoxic Orthodontic Welding of the Silver. *Orthod Sci Pract.* 2009;2(6):547-50.
23. Sestini S, Notarantonio L, Cerboni B, Alessandrini C, Fimiani M, Nannelli P, et al. In vitro toxicity evaluation of silver soldering, electrical resistance, and laser welding of orthodontic wires. *Eur J Orthod.* 2006 Dec;28(6):567-72.
24. Vande Vannet B, Hanssens JL, Wehrbein H. The use of three-dimensional oral mucosa cell cultures to assess the toxicity of soldered and welded wires. *Eur J Orthod.* 2007 Feb;29(1):60-6.
25. Goncalves TS, de Menezes LM, Ribeiro LG, Lindholz CG, Medina-Silva R. Differences of cytotoxicity of orthodontic bands assessed by survival tests in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomed Res Int.* 2014:143283.
26. Goncalves TS, Menezes LM, Trindade C, Machado Mda S, Thomas P, Fenech M, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of orthodontic bands with or without silver soldered joints. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2014 Mar 1;762:1-8.
27. Locci P, Marinucci L, Lilli C, Belcastro S, Staffolani N, Bellocchio S, et al. Biocompatibility of alloys used in orthodontics evaluated by cell culture tests. *J Biomed Mater Res.* 2000 Sep 15;51(4):561-8.
28. Wataha JC, Malcolm CT, Hanks CT. Correlation between cytotoxicity and the elements released by dental casting alloys. *Int J Prosthodont.* 1995 Jan-Feb;8(1):9-14.
29. Kao CT, Ding SJ, Min Y, Hsu TC, Chou MY, Huang TH. The cytotoxicity of orthodontic metal bracket immersion media. *Eur J Orthod.* 2007 Apr;29(2):198-203.
30. Shigeto N, Yanagihara T, Hamada T, Budtz-Jorgensen E. Corrosion properties of soldered joints. Part I: Electrochemical action of dental solder and dental nickel-chromium alloy. *J Prosthet Dent.* 1989 Nov;62(5):512-5.
31. Amini F, Borzabadi Farahani A, Jafari A, Rabbani M. In vivo study of metal content of oral mucosa cells in patients with and without fixed orthodontic appliances. *Orthod Craniofac Res.* 2008 Feb;11(1):51-6.
32. Souza RMd, Menezes LMd. Nickel, Chromium and Iron Levels in the Saliva of Patients with Simulated Fixed Orthodontic Appliances. *Angle Orthod.* 2008 2015/02/06;78(2):345-50.
33. Noort VR. *Introdução aos materiais dentários.* São Paulo: Artmed; 2004.
34. Borenfreund E, Puerner JA. Toxicity determined in vitro by morphological alterations and neutral red absorption. *Toxicol Lett.* 1985 Feb-Mar;24(2-3):119-24.
35. Wataha JC, Hanks CT, Sun Z. Effect of cell line on in vitro metal ion cytotoxicity. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials.* 1994 May;10(3):156-61.
36. Chung JH, Cho KH, Lee DY, Kwon OS, Sung MW, Kim KH, et al. Human oral buccal mucosa reconstructed on dermal substrates: a model for oral epithelial differentiation. *Arch Dermatol Res.*

APÊNDICES

Apêndice 1. Ficha de Elegibilidade

Elegibilidade

Estudo: número do estudo cegado

Revisor: nome do revisor

O estudo é sobre solda de prata em Ortodontia?

Sim



Siga

Duvidoso



Siga

Não



Excluir

O estudo é *in vitro* ou *in vivo*?

Sim



Siga

Duvidoso



Siga

Não



Excluir

**O estudo avalia efeitos citotóxicos e/ou genotóxicos da solda
prata?**

Sim



Siga

Duvidoso



Siga

Não



Excluir

DECISÃO FINAL

INCLUIR

DUVIDOSO (discutir com revisores)

EXCLUIR (não preencheu pré-requisitos)

Apêndice 2. Ficha de Extração de Dados

Ficha A

Estudo: número do estudo cegado **Revisor:** nome do revisor **Data:**

Nome do primeiro autor:
Tipo de estudo: (*in vivo*)

Ano de publicação:

Dados descritivos do estudo:

	Tamanho da amostra	Idade (média/DP)	Gênero (%)	Etnia (%)
Total do estudo				

	Tratamento realizado na amostra	Tempo de tratamento	Desfecho
Total do estudo			

	Critérios utilizados para avaliação da Citotoxicidade? Tipo de teste?	Critérios utilizados para avaliação da Genotoxicidade? Tipo de teste?
Total do estudo		

Ficha B

Estudo: número do estudo cegado **Revisor:** nome do revisor **Data:**

Nome do primeiro autor:
Tipo de estudo: (*in vitro*)

Ano de publicação:

Dados descritivos do estudo:

	Tamanho da amostra	Critério utilizado para avaliação da Citotoxicidade? Tipo de teste?	Critério utilizado para avaliação da Genotoxicidade? Tipo de teste?
Total do estudo			

	Qual cultura celular utilizada	Qual tratamento utilizado na célula (Contato direto ou indireto)	Tempo	Desfecho
Total do estudo				

ANEXOS

Anexo A



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ORTODONTIA E ORTOPEDIA FACIAL
NÍVEL: Mestrado
EXAME DE QUALIFICAÇÃO – ATA 01/14

Data: 16/janeiro/2014 – 15h

Candidato: RENATO DALLA PORTA GARCIA

Orientadora: Profa. Dra. Luciane Macedo de Menezes

Título da pesquisa: "*Efeitos citotóxicos e genotóxicos das ligas de solda de prata: Revisão sistemática*".

Comissão Examinadora: Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber
Profa. Dra. Maria Ivete Bolzan Rockenbach

Aprovado

Aprovado com projeto pendente

Reprovado

Ass.:

Renato Dalla Porta Garcia
Aluno

Ass.:

Profa. Dra. Luciane Macedo de Menezes
Orientadora

Ass.:

Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber
Professor Avaliador

Ass.:

Profa. Dra. Maria Ivete Bolzan Rockenbach
Professora Avaliadora

Ass.:

Profa. Dra. Ana Maria Spohr
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Prof.^ª Dr.^ª Ana Maria Spohr
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Odontologia - PUCRS
CRO-RS 10143

Anexo B

**SIPESQ**

Sistema de Pesquisas da PUCRS



Código SIPESQ: 5639

Porto Alegre, 4 de junho de 2014.

Prezado(a) Pesquisador(a),

A Comissão Científica da FACULDADE DE ODONTOLOGIA da PUCRS apreciou e aprovou o Projeto de Pesquisa " Efeitos citotóxicos e genotóxicos das ligas de solda de prata em Ortodontia: Revisão Sistemática" coordenado por LUCIANE MACEDO DE MENEZES. Caso este projeto necessite apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e/ou da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), toda a documentação anexa deve ser idêntica à documentação enviada ao CEP/CEUA, juntamente com o Documento Unificado gerado pelo SIPESQ.

Atenciosamente,

Comissão Científica da FACULDADE DE ODONTOLOGIA