UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE MATERIAIS DENTÁRIOS E PRÓTESE

CARLA MARIA DE ALMEIDA PRADO MAGDALENA

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TÉCNICAS DE CONFECÇÃO DA PRÓTESE OCULAR NAS PROPRIEDADES FÍSICAS, MECÂNICAS, VIABILIDADE CELULAR E ALTERAÇÃO DE COR.

RIBEIRÃO PRETO

2018

CARLA MARIA DE ALMEIDA PRADO MAGDALENA

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TÉCNICAS DE CONFECÇÃO DA PRÓTESE OCULAR NAS PROPRIEDADES FÍSICAS, MECÂNICAS, VIABILIDADE CELULAR E ALTERAÇÃO DE COR.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre, junto ao Programa de Pós-graduação em Odontologia (Reabilitação Oral) do Departamento de Materiais Dentários e Prótese.

Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Orientadora: Profª Drª Cláudia Helena Lovato da Silva.

Ribeirão Preto

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Magdalena, Carla Maria de Almeida Prado

Influência de diferentes técnicas de confecção da prótese ocular nas propriedades físicas, mecânicas, viabilidade celular e alteração de cor.

Ribeirão Preto, 2018.

163p. : il. ; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Reabilitação Oral.

Orientadora: Silva-Lovato, Cláudia Helena

1. Prótese ocular. 2. Propriedades. 3. Caracterização. 4. Alteração de Cor.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Carla Maria de Almeida Prado Magdalena

Influência de diferentes técnicas de confecção da prótese ocular nas propriedades físicas, mecânicas, viabilidade celular e alteração de cor.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre, junto ao Departamento de Materiais Dentários e Prótese.

Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Data da defesa:

Banca Examinadora

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Aos meus pais, Cássia e Jerônimo, com amor:
Vocês sonharam comigo, e me amaram antes mesmo que eu existisse.
E como pais amorosos, sonharam e amaram da mesma forma com todos os filhos.
Desejando as realizações e conquistas mais lindas para cada um!
Para isso se doaram em silêncio, abdicando dos próprios desejos.
Preocuparam-se em ser bons exemplos.
E construíram nossa grande família tendo como alicerce,
Deus, o amor e a honestidade!
Obrigado por me apoiarem e incentivarem!
O que sou, devo a vocês!

Aos meus amados irmãos,
João Paulo, João Pedro, João Felipe, Maria Clara e João Francisco
"Eu escolheria vocês em cem vidas
E eu escolheria vocês em cem mundos
Em qualquer versão da realidade eu os encontraria e os escolheria"
Obrigada por todos os momentos incontáveis de amor e carinho.
Pelos incentivos e alegria da convivência em família.
Por demonstrarem na prática, que o verdadeiro amor não se esgota, ele torna-se infinito!

Ao meu sobrinho/afilhado,
Anjinho amado João Miguel,
Que você continue crescendo na graça de Deus, amoroso e alegre.
Você é amor, paz e alegria para nossas almas!

É impossível colocar em palavras o amor por vocês!
Não existe descrição que seja suficiente para tal sentimento!
A vocês minha família, meu bem mais precioso, base de tudo que sou e faço, dedico este trabalho!

Agradecimento Especial

A minha querida orientadora Prof.ª Cláudia Helena Lovato da Silva,

Ensinar não é somente transmitir o conhecimento, é tocar e inspirar o coração de cada aluno.

Obrigada!

Por todo acolhimento e disponibilidade, sempre.

Por todo ensinamento transmitido, com paciência e carinho.

Por ser exemplo de professora, dedicada, sempre disponível a ajudar e ensinar a todos.

Por ser exemplo de cirurgiã dentista, que cuida e acolhe todos os seus pacientes com amor.

Por me inspirar a seguir o que amo!

Meu respeito e admiração!

Meu carinho e agradecimento eternos!

Agradecimentos

A Deus pela benção da vida. Por se fazer presente, principalmente nas horas difíceis. E por todas as oportunidades concedidas e confiadas a mim.

Aos amigos, antigos e novos, obrigada por toda cumplicidade, apoio e incentivo. Por estarem presentes nos bons e maus momentos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela oportunidade e pelo auxílio financeiro concedido.

A Universidade de São Paulo, pela excelência na formação acadêmica de seus alunos e por todas as oportunidades desde a Graduação.

A Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, representada na pessoa da Prof.ª Dr.ª Léa Assed Bezerra da Silva, por todas as oportunidades e infraestrutura disponível para a realização do nosso trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, representado na pessoa do Prof.º Dr.º Ricardo Faria Ribeiro, pelo excelente programa e a busca para sempre atingir níveis ainda mais altos de excelência.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, por toda dedicação e empenho para com o Programa e seus alunos, por todo conhecimento partilhado.

A Prof.ª Dr.ª Valeria Oliveira Pagnano de Souza, pela amizade desde os tempos da Graduação, as conversas, risadas, momentos de convivência e aprendizado. Meu carinho e admiração.

A Prof.ª Dr.ª Takami Hirono Hotta, pela amizade desde os tempos da Graduação, por toda serenidade, conselhos, momentos de convivência e aprendizado. Meu carinho e admiração.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, pelos momentos de convivência, todo crescimento intelectual, profissional e pessoal adquirido nesses anos.

A todos os funcionários do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, por proporcionarem um ambiente acolhedor para a convivência diária e organizado para a realização dos trabalhos.

A Adriana Claudia L. Faria Queiroz, pelo auxílio e ensinamento na realização dos ensaios de dureza.

A Ana Paula Macedo, pela disponibilidade e ajuda com o trabalho, pelo auxílio e ensinamento para a realização dos ensaios de porosidade e rugosidade.

A Rafaella Tonani, pela disponibilidade e paciência, pelo auxílio e ensinamento para a realização do ensaio de alteração de cor.

A Viviane de Cássia Oliveira, por toda ajuda com o trabalho desde o início, pela disponibilidade, paciência e ensinamentos.

A José Carlos Ferreira Junior, por todas as horas no laboratório me ensinando as etapas laboratoriais para a confecção da prótese ocular, por todas as conversas, momentos de convivência e aprendizado.

A Prof.ª Dr.ª Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza, por toda disponibilidade em ajudar com todo seu conhecimento e por disponibilizar os equipamentos do laboratório para a realização do trabalho.

Ao Profº Márcio Mateus Beloti, por todo seu conhecimento, toda sua disponibilidade e parceria para a realização dos ensaios de viabilidade celular.

Aos profissionais do Laboratório de Cultura de Células da Faculdade de Odontologia de RP, pelo acolhimento e disponibilidade em realizar os ensaios propostos.

Resumo

MAGDALENA, CMAP. **Influência de diferentes técnicas de confecção da prótese ocular nas propriedades físicas, mecânicas, viabilidade celular e alteração de cor.** Ribeirão Preto, 2018. 163p. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Este estudo avaliou o efeito de duas técnicas de caracterização da prótese ocular sobre propriedades da resina acrílica e viabilidade celular de fibroblastos e o efeito de substratos de fixação, tempo de secagem/agente de proteção da pintura e tempo de armazenamento sobre a alteração de cor da íris. Para porosidade, rugosidade e dureza, 30 espécimes circulares compuseram três grupos: **Controle -** Resina acrílica termopolimerizável (N1)+resina acrílica incolor termopolimerizável (RAIT); **G1:** N1+caracterização direta com pigmento acrílico vermelho e monopólio+RAIT; **G2:** N1+caracterização indireta com pigmento acrílico vermelho+RAIT. As variáveis foram mensuradas após polimento dos espécimes com discos de feltro, pedra pomes e branco de espanha em politriz. Para viabilidade celular os corpos de prova, semelhantes aos descritos acima, foram colocados em contato direto com as células, em suas diferentes fases de confecção: resina N1; N1+caracterização; N1+caracterização+RAIT. Para quantificação do percentual de porosidade em Microscópio invertido e software NIS Elements Basic Research foram realizadas quatro leituras. O ensaio de rugosidade (Rugosímetro; cut off de 0,8mm/4,8mm de área) seguiu a norma ABNT/NBR/ISSO 4287:2002, com 3 mensurações e uma média final. Para a dureza Knoop (Microhardness Tester Shimadzu, carga de 25g/5seg) foram obtidas 4 mensurações e uma média final. A viabilidade celular foi avaliada pela fluorescência direta, MTT e RT-PCR em uma linhagem de fibroblastos. Para a alteração de cor da íris, 60 espécimes foram distribuídos em seis grupos em função do tempo de secagem da pintura da íris (24hr ou 1hr)/agente de proteção da íris (cianoacrilato, cianoacrilato+polímero; monopólio+polímero) sendo divididos em subgrupos em função do substrato de fixação (cera ou resina N1). Calotas acrílicas foram pintadas com tinta acrílica preta (pupila e fundo final); Sépia (halo externo); marrom Vandik (cor base). Após a pintura e respeitado o tempo de secagem de cada grupo, as íris receberam uma camada do agente de proteção e depois da secagem, foram submetidas à primeira leitura de cor (Easy Shade - iluminação D65). Um padrão de esclera foi incluído para a obtenção de escleras em cera e resina acrílica N1, nas quais as íris foram fixadas e processadas. Imediatamente após a confecção das próteses, foram realizadas as mensurações de cor, as próteses foram armazenadas em recipiente com água a 37ºC para novas leituras após 14 e 28 dias. Para a porosidade, G2 apresentou a menor porcentagem, sendo estatisticamente diferente dos demais, os quais foram semelhantes entre si

(Teste de Kruskal-Wallis; p=0,00). Não houve diferença significante entre os grupos para rugosidade (ANOVA; p=0,303). O G2 apresentou menor dureza quando comparado ao controle e G1 apresentou valores intermediários (ANOVA; p=0,020). Após o contato direto não foi detectada viabilidade celular das células conjuntivas. Para alteração de cor, comparando os grupos em cada substrato, G4/cera e G6/resina apresentaram a menor alteração cromática. Comparando os substratos, as maiores alterações foram encontradas na cera. A caracterização indireta proporcionou menor porosidade e dureza comparada à técnica direta. Ambas influenciaram negativamente na viabilidade celular. A alteração de cor da íris foi maior no G5.
Palavras – chave: 1. Prótese ocular. 2. Propriedades. 3. Caracterização. 4. Alteração de Cor.

Abstract

MAGDALENA, CMAP. **Influence of different ocular prosthesis making technique on physical, mechanical, cellular viability and color alterations.** Ribeirão Preto, 2018. 163p. Dissertation (Master's Degree in Oral Rehabilitation). Ribeirão Preto Dental School, University of São Paulo.

This study evaluated the effect of two techniques of ocular prosthesis characterization on acrylic resin properties and cellular viability of fibroblasts and the effect of fixation substrates, drying time/paint protection agent on iris color change. For porosity, roughness and hardness, 30 circular specimens comprised three groups: **Control –** Heat cured acrylic resin (N1) + heat cured acrylic resin (RAIT); **G1**: N1 + direct characterization with red acrylic pigment and monopoly + RAIT; **G2:** N1 + indirect characterization with red acrylic pigment + RAIT. The variables were measured after polishing of the specimens with felt discs, pumice stone and white from Spain in politriz. For cell viability, similar specimens to those described above were placed in direct contact with the cells in different phases of their preparation: N1 resin; N1 + characterization; N1 + characterization + RAIT. For percentage porosity quantification with inverted microscope and NIS Elements Basic Research software, four readings were performed. The roughness test (Rugosimeter, cut off of 0.8mm/4.8mm area) followed the ABNT/NBR/ISO 4287:2002 standard, with 3 measurements and a final mean. For the Knoop hardness (Microhardness Tester Shimadzu, loading of 25g / 5sec), 4 measurements and a final mean were obtained. Cell viability was assessed by direct fluorescence, MTT and RT-PCR in a fibroblast line. For the iris color change, 60 specimens were distributed in six groups in according of iris paint drying time (24hr or 1hr)/iris protection agent (cyanoacrylate, cyanoacrylate + polymer, monopoly + polymer) and divided into subgroups in according with fixation substrate (wax or N1 resin). Acrylic shells were painted with acrylic paint: black (pupil and bottom end); Sepia (external halo); Vandik brown (base color). After painting and respecting the drying time of each group, the irises received a layer of the protective agent and after drying, they were subjected to the first color reading (Easy Shade - ilumination D65). A sclera pattern was included to obtain sclera in wax or acrylic resin N1, in which irises were fixed and processed. Immediately after the preparation of the prostheses, the color measurements were performed, the prostheses were stored in a container with water at 37ºC for new readings after 14 and 28 days. For the porosity, G2 show the lowest percentage, being statistically different from the others, which were similar to each other (Kruskal-Wallis test; $p = 0.00$). There was no significant difference between groups for roughness (ANOVA; $p = 0.303$). The G2 showed lower hardness when compared to the control and G1 showed

intermediate values (ANOVA; p = 0.020). After direct contact, no cellular viability of the connective cells was detected. For color change, comparing the groups in each substrate, G4/ wax and G6 showed the least chromatic alteration. Comparing the substrates, the largest changes were found with the wax. The indirect characterization provided lower porosity and hardness compared to the direct technique. Both had a negative influence on cell viability. The iris color change was greater in G5.
Key-words: 1. Ocular prostheses. 2. Properties. 3. Caracterization. 4. Color change.

Lista de Figuras

Figura 1a – Representação esquemática dos corpos de prova
Figura 1b – Corpos de prova para ensaios de porosidade, rugosidade e dureza.
Figura 2a – Representação esquemática dos grupos experimentais para viabilidade celular
Figura 2b – Corpos de prova dos grupos experimentais para viabilidade celular
Figura 3 - Fluxograma dos grupos e subgrupos para avaliação da alteração de cor da íris
Figura 4 – Padrão em cera com 12 mm x 3 mm, 2 mm e 1,5 mm de espessura
Figura 5 – Caixa de Teflon
Figura 6 – Silicone Zetalabor
Figura 7 – Mufla com Silicone Zetalabor
Figura 8 – Resina N1, Resina Incolor e Monômero
Figura 9 – Prensa Hidráulica
Figura 10 – Termopolimerizadora
Figura 11 – Politriz
Figura 12 – Monopólio e Pigmento acrílico
Figura 13 – Balança de Precisão
Figura 14 – Microscópio Invertido
Figura 15 – Redução das sombras e background no Programa Photoshop
Figura 16 – Porosidades selecionadas
Figura 17 – Foto editada com porosidades mantidas
Figura 18 – Programa Image J
Figura 19 - Conversão das imagens em formato binário
Figura 20 - Cálculo da área da região escura
Figura 21 – Porcentagem de porosidade por área total da foto
Figura 22 – Rugosímetro
Figura 23 – Microdurômetro
Figura 24 – Íris recortada
Figura 25 – Tintas Acrílicas
Figura 26 – Pintura da pupila
Figura 27 – Pintura do halo externo
Figura 28 – Pintura da cor base
Figura 29 – Pintura do fundo
Figura 30 – Aplicação do cianoacrilato
Figura 31 – Aplicação do monopólio e polímero
Figura 32 – Aplicação do monopólio e polímero

Figura 33 – Modelo de esclera
Figura 34 – Modelo de esclera incluído
Figura 35 – Padrão de esclera em cera
Figura 36 – Padrão de esclera em resina
Figura 37 – Prensa hidráulica
Figura 38 – Panela polimerizadora
Figura 39 – Padrão em cera com centro demarcado
Figura 40 – Padrão em resina com centro demarcado
Figura 41 – Padrão em cera com íris fixada
Figura 42 – Padrão em resina com íris fixada
Figura 43 – Padrão em cera reincluído
Figura 44 – Padrão em resina reincluído
Figura 45 – Eliminação da cera
Figura 46 – Resina N1 sendo prensada
Figura 47 – Resina N1 polimerizada
Figura 48 – Conjunto após acabamento
Figura 49 – Desgaste em canaletas do padrão em resina
Figura 50 – Desgaste completo do padrão em resina
Figura 51 – Conjunto com resina incolor polimerizada
Figura 52 – Acabamento da Prótese Ocular com peça reta
Figura 53 – Acabamento da Prótese Ocular com tira de lixa
Figura 54 – Polimento da Prótese Ocular com pedra pomes
Figura 55 – Polimento da Prótese Ocular com disco de feltro
Figura 56 – Polimento da Prótese Ocular com branco de espanha
Figura 57 – Prótese Ocular finalizada
Figura 58 – Cabine de luz com o aparelho Easy Shade e a matriz
Figura 59 – Matriz em silicone e em resina acrílica
Figura 60 – Matriz com conjunto em posição
Figura 61 – Primeira posição para leitura de cor
Figura 62 – Segunda posição para leitura de cor
Figura 63 – Terceira posição para leitura de cor
Figura 64 – Quarta posição para leitura de cor
Figura 65 – Posição central para leitura de cor

Figura 66 – Comparação da % de porosidade entre os grupos. Cores iguais indicam igualdade estatística (p=0,00)
Figura 67 - Comparação das médias (DP) de rugosidade superficial dos corpos de prova dos grupos estudados (p=0,303)
Figura 68 - Comparação das médias (DP) de dureza dos corpos de prova dos grupos estudados. Letras iguais indicam igualdade estatística (p=0,020)
Figura 69 – Termanox após 3 dias
Figura 70 – Grupo Controle após 24 horas
Figura 71 – Metabolismo celular após 3 dias
Figura 72 – Metabolismo celular após 7 dias
Figura 73 – Metabolismo celular após 10 dias
Figura 74 – Quantificação de RNA no grupo Termanox e grupos controle e experimentais
Figura 75 – Comparação das médias (DP) da alteração de cor nos grupos de G1 a G6 (p=0,000), pelos sistemas CieLab e NBS. Letras iguais indicam igualdade estatística

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Características observadas visualmente e escores atribuídos
Tabela 2 – Porosidade (%) dos corpos de prova dos grupos controle, 1 e 2, estatística descritiva e comparação estatística
Tabela 3 – Rugosidade superficial dos corpos de prova nos diferentes grupos, estatística descritiva e comparação das médias
Tabela 4 – Dureza dos corpos de prova nos diferentes grupos, estatística descritiva e comparação das médias
Tabela 5 - Alteração de cor, média e (DP) dos corpos de prova de cada grupo e substratos após a obtenção da prótese (T1) e após 14 (T2) e 28 (T3) dias de armazenamento em água a 37ºC
Tabela 6 - Análise estatística da variação de cor dos corpos de prova de cada grupo, substratos e tempos
Tabela 7 – Comparação das médias (DP) da alteração de cor quando da interação Grupo x Tempo (p=0,036)
Tabela 8 - Comparação das médias (DP) da alteração de cor quando da interação Grupo x Substrato (p=0,000)
Tabela 9 – Porcentagem do número médio de corpos de prova que apresentaram alterações visuais em cada grupo, tempo e substrato, e média das alterações encontradas
Tabela 10 - Soma dos escores de alterações visuais atribuídos a cada corpo de prova nos diferentes grupos, substratos e tempo

Lista de Materiais

MATERIAL	MARCA	CIDADE/ PAÍS	LOTE
Gesso Tipo III	Asfer, Indústria Química Ltda	São Caetano do Sul, Brasil	2479 5
Silicone	Zetalabor, Zhermack	Rovigo, Italy	148876
Catalisador	Indurent Gel, Zhermack	Rovigo, Italy	252455
Cera nº 9	Polidental, Indústria e Comércio Ltda	Cotia, SP, Brasil	41510
Cera amarela	Polidental	São Paulo, Brasil	37580
Resina Acrílica Termopolimerizável N1	Artigos Odontológicos Clássico Ltda	Campo Limpo Paulista, Brasil	708051
Resina Acrílica Termopolimerizável Incolor	Artigos Odontológicos Clássico Ltda	Campo Limpo Paulista, Brasil	923001
Monômero	Artigos Odontológicos Clássico Ltda	Campo Limpo Paulista, Brasil	026583
Pigmento Acrílico	Artigos Odontológicos Clássico Ltda	Campo Limpo Paulista, Brasil	11783
Tinta Acrílica	Acrilex	São Bernardo dos Campos, São Paulo, Brasil	Preto (438969); Sépia (377949); Vandik (437653)

Sumário

1. INTRODUÇÃO 51

2. REVISÃO DE LITERATURA 57

3. PROPOSIÇÃO 79

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho Experimental 83

4.2 Porosidade, Rugosidade e Dureza

4.2.1 Obtenção dos espécimes e formação dos grupos 86

4.2.2 Ensaio de Porosidade de Superfície 91

4.2.3 Ensaio de Rugosidade de Superfície 94

4.2.4 Ensaio de Dureza de Superfície 95

4.3 Viabilidade Celular

4.3.1 Obtenção dos espécimes e formação dos grupos 95

4.3.2 Esterilização dos espécimes 97

4.3.3 Cultura de Células 98

4.3.4 Mensuração da Viabilidade Celular:

4.3.4.1 Fluorescência Direta 98

4.3.4.2 MTT 99

4.3.4.3 RT-PCR 99

4.4 Alteração de Cor

4.4.1 Obtenção dos espécimes e formação dos grupos 101

4.4.2 Mensuração da Cor 109

4.5 Análise dos Dados 113

5. RESULTADOS

5.1 Porosidade 117

5.2 Rugosidade 119

5.3 Dureza 121

5.4 Viabilidade Celular 123

5.5 Alteração de Cor 125

6. DISCUSSÃO

6.1 Parte 1 133

6.2 Parte 2 139

7. CONCLUSÃO 147

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 151

1. Introdução

A face é a parte do corpo humano que identifica e caracteriza as pessoas, sendo responsável também por expressar as emoções. Uma vez sofrida alguma injúria por doença ou trauma que provoquem a deformidade facial, o paciente será acometido por prejuízo estético, funcional, emocional e psicológico (Cyrillo, 1987; Saboya, 1997). Visando minimizar tais prejuízos, as próteses bucomaxilofaciais buscam reparar as perdas e deformidades decorrentes dos traumas e das intervenções cirúrgicas, possibilitando assim a reparação da estética e da função do paciente, bem como sua reinserção na sociedade, com consequente melhoria da qualidade de vida e autoestima.

A especialidade da Prótese bucomaxilofacial abrange diferentes tipos de próteses, dentre as quais, a prótese ocular. A reabilitação de um indivíduo anoftálmico por meio de prótese ocular tem como objetivos recuperar a estética facial do paciente, proteger a cavidade anoftálmica, conduzir de forma adequada as secreções para o ducto do canal lacrimal para que não se acumulem na cavidade e devolver o contorno e tonicidade das pálpebras (Fonseca, 1987; Silva, Carvalho, 1994; Rezende, 1997). Dessa forma, o seu uso proporciona uma visível melhora na qualidade de vida do paciente, contribuindo com a sua autoestima, sua reintegração social e adaptação psicossocial (Chalian, Drane, 1971). A necessidade de utilização da prótese ocular atinge ambos os sexos de todas as faixas etárias (Modugno et al., 2013) e a sua indicação pode ser decorrente de malformações congênitas, traumas ou patologias (Artopoulou et al., 2006; Modugno et al., 2013; Zhang et al., 2015). Frente a qualquer uma destas condições, a indicação de procedimentos cirúrgicos pode ser inevitável para evisceração (esvaziamento do conteúdo do globo ocular com manutenção da esclera), enucleação (remoção completa do globo ocular) ou exenteração (remoção do globo ocular e das pálpebras). Imediatamente após o procedimento, o paciente passa a ter comprometimento funcional com a perda da visão e limitação dos movimentos palpebrais, bem como comprometimento estético (Pine et al., 2011), influenciando, de forma negativa, a posição social e econômica do paciente, gerando insegurança (Ye et al., 2015) e comprometimento emocional (Raizada, Rani, 2007), psicossocial, depressão e ansiedade (Ye et al., 2015), assim como implicações em sua personalidade e em sua percepção de saúde (Ahn et al., 2010; Rasmussen, Prause, Toft, 2011).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que haja na população mundial um número de 39 milhões de cegos, sendo a maioria (82%) adultos acima de 50 anos (Taleb et al., 2012). Na população infantil, estimam-se 1,4 milhões de crianças cegas no mundo. Apesar de não haverem muitos relatos e acompanhamentos sobre essa população (Modugno et al., 2013; Ye et al., 20015), de acordo com tais dados da OMS de 2011, pode-se inferir que

muitas pessoas necessitarão de reabilitação protética ocular, considerando a expectativa de vida e as perturbações decorrentes da cirurgia de remoção do globo ocular.

A reabilitação protética ocular, assim como as demais áreas reabilitadoras, evoluiu durante os anos (Chinnery et al., 2017). Atualmente, as próteses são confeccionadas em resina acrílica termopolimerizável a partir de um molde da cavidade anoftálmica (Jain, Jain, 2016; Chinnery et al., 2017), e para obtenção da estética adequada, devem ter o componente escleral caracterizado com veias artificiais e pigmentação (Tripuraneni et al., 2015; Bankoti et al., 2016; Ruiters et al., 2016) e a íris com a cor e características semelhantes com as do paciente (Alfenas et al., 2018).

No entanto, durante o processo de confecção da prótese ocular, os profissionais podem vivenciar dificuldades como irritação local com aumento da secreção, bem como alterações de cor da íris protética, as quais podem estar relacionadas às características do material e da técnica de confecção das próteses. Na literatura pode-se encontrar diversos relatos de caso descrevendo diferentes técnicas com o objetivo de obter resultados estéticos favoráveis, facilitar a confecção da prótese e proporcionar conforto ao paciente (Chattopadhyay, Shetty, Sinha, 2016; Chamaria et al., 2017; Choubisa, 2017; Da Costa et al., 2017; Jamayet et al., 2017; Pathak, et al., 2017), porém, poucos descrevem os resultados obtidos por meio dessas técnicas, ao longo do tempo.

Uma das vertentes de estudos relacionados à técnica de confecção investigam a alteração de cor da prótese ocular quando submetida a diferentes condições de pintura, armazenamento, envelhecimento e polimento (Reis, Dias, Carvalho, 2008; Goiato et al., 2010a; Goiato et al., 2010b; Canadas et al., 2010; Goiato et al., 2011a; Goiato et al., 2011b; Mundim et al., 2012; Bannwart et al., 2013;; Moreno et al., 2015), visando a satisfação estética do paciente e maior durabilidade do tratamento. Entretanto, com base em nosso conhecimento, não foram encontrados estudos que avaliaram a alteração de cor das próteses oculares em função do tempo de secagem da tinta/meios de proteção da pintura da íris e substrato para a inclusão, aspectos estes que podem interferir no resultado final.

Outra questão importante a ser considerada quanto à técnica de confecção da prótese está relacionada à caracterização da esclera artificial, uma vez que envolve uma grande quantidade de monômero, o qual causar irritação tecidual (Da Silva et al. 2016b; Rai et al. 2014) e no caso das próteses oculares, o aumento na produção de secreção e desconforto ao paciente. Além disso, a maior quantidade de monômero pode ser responsável por alterações na porosidade, rugosidade e dureza da resina acrílica em função da liberação de monômero residual (Azzarri et al., 2003; Compagnoni et al., 2004). A porosidade da resina acrílica se relaciona com a resistência do material de forma inversamente proporcional e ainda, os poros

podem se expor superficialmente, causando alteração da rugosidade com consequente aumento na adesão de microrganismos (Moura et al., 2006; Quirynen et al., 1990). A dureza é uma propriedade definida como a capacidade de um material resistir ao desgaste e manter sua capacidade de polimento ao longo do tempo. Assim, o controle da porosidade, rugosidade e dureza em níveis clinicamente aceitáveis é importante para garantir menor contaminação, menor risco de irritação tecidual e maior durabilidade do aparelho protético.

Assim, a realização de estudos padronizados e controlados que avaliem e comparem diferentes técnicas de caracterização e obtenção e inclusão da íris da prótese ocular visando segurança e previsibilidade para a sua aplicação em um maior número possível de casos, ainda são necessários.

2. Revisão de Literatura

O levantamento bibliográfico teve como bases de dados o Pubmed, Scielo, Lilacs e Google acadêmico e foram selecionados artigos com as palavras chaves: olho artificial (artificial eye), prótese ocular (ocular prosthesis), resina acrílica (acrylic resin), porosidade (porosity), rugosidade (roughness), dureza (hardness), íris (iris), alteração de cor (color change) e citotoxicidade (citotoxicity). A revisão de literatura se refere ao período de 1945 a 2018.

2.1 Histórico

As perdas e deformidades oculares só começaram a receber atenção com o surgimento da escultura e pintura, modalidades artísticas que favoreceram o desenvolvimento de diversos materiais e técnicas. Na literatura são encontrados relatos da utilização de técnicas cirúrgicas oculares entre civilizações da Babilônia e Suméricas, utilização de olhos em madrepérola e hematite nas esculturas de Maias, Incas e Astecas, utilização de pedras preciosas em olhos de mortos Egípcios e a utilização de olhos artificiais em resina vegetal por índios (Fonseca, Rode, Rosa, 1973; Fonseca, Rose, 1987; Varella, Oliveira, 1994; Perrone et al., 1996). Em Roma e no Egito, por volta do século V a.c., já se confeccionavam próteses oculares para pessoas vivas, com lâminas metálicas e cerâmica pintadas (Kelley, 1971; Cain, 1982; Fonseca; Rose, 1987, Tokenlaar et al., 1991).

Na evolução das técnicas de confecção da prótese ocular, Ambrose Paré pode ser destacado como um grande pesquisador que desenvolveu técnicas revolucionárias para obtenção do olho artificial em forma de concha utilizando o vidro e a porcelana e reproduzindo a íris. Também confeccionou próteses em ouro e prata com o formato do globo ocular, onde duas partes convexas eram soldadas, revestidas com porcelana e então, caracterizadas com a íris e vasos sanguíneos (Fonseca, Rode, 1974; Buckel, Bovet, 1992; Conroy, 1993).

No começo do século XIX alguns profissionais ocularistas como Desjardin, Hazard e Boissoneou destacaram-se na área, despertando o interesse de outros como Ludwig Muller Uri, que desenvolveu habilidade na fabricação de olhos artificiais para bonecas, e mais tarde, tornou-se um dos melhores e mais respeitados ocularistas profissionais do mundo, iniciando a indústria Alemã no ramo (Fonseca, Rode, 1974; Conroy, 1993), a qual se tornou a maior fabricante e exportadora de próteses oculares do mundo, dominando a qualidade dos materiais e resultados estéticos das próteses (Benson, 1977).

Em 1851, o suíço Pierre Gougelman instituiu em Nova York, Estados Unidos, a fabricação das próteses oculares em vidro (Pitton et al., 1945). Pouco depois, em 1892, os irmãos Muller confeccionaram uma prótese de vidro composta por duas conchas ocas (Kelley, 1971; Tokenlaar et al., 1991).

Com decorrer do tempo, a compreensão dos objetivos e limitações das próteses oculares levaram muitos pesquisadores a buscarem técnicas que atendessem as necessidades de estética e função dessas próteses. Uma das técnicas foi desenvolvida por Taylor, em 1922, e baseava-se na sobreposição de camadas que davam o efeito da variação do diâmetro pupilar (Fonseca, Rode, Rosa, 1973). Milauro em 1927, confeccionou próteses em diferentes tamanhos e a íris era fixada com adesivo pelo paciente no momento do uso (Fonseca, Rode, Rosa, 1973). Em 1936, George Prescott preconizou uma técnica na qual a borda inferior da prótese era modificada e favorecia a adaptação do paciente, sua qualidade de vida, assim como diminuía a quantidade de secreção. Também houveram militares que desenvolveram protocolos para a confecção de próteses oculares. Alguns deles, Niiranen, Witz, Dietz, preconizaram uma técnica de confecção de olhos de vidro, baseada nos passos para a confecção das próteses dentais, técnica utilizada até hoje, praticamente sem modificações (Fonseca, Rode, 1974; Fonseca, 1987).

Entretanto, o maior avanço da área ocorreu durante a Segunda Guerra Mundial, quando a indústria Alemã ficou impedida de exportar seus produtos. Outro grande avanço também ocorreu com o surgimento da resina acrílica por ser um material que apresenta facilidade de trabalho e melhores resultados quando comparado ao vidro, considerado um material de difícil manipulação, formas e cores padronizados e mobilidade reduzida. Assim, a resina acrílica que era utilizada na confecção de próteses totais, tornou-se o material de preferência para a confecção da prótese ocular (Kelley, 1971). Foi utilizada pela primeira vez por Clarkson, e, embora houvesse a necessidade de aprimoramento, a técnica demonstrou-se muito favorável e com grande potencial (Fonseca, Rode, Rosa, 1973; Fonseca, Rode, 1974). Dentre as vantagens da resina acrílica, além da facilidade de trabalho, o material não é afetado pelas secreções e as próteses confeccionadas apresentam cor, forma e mobilidade individualizada (Oliveira, 1982). A mobilidade é obtida por meio de uma moldagem prévia que permite cópia da cavidade com consequente adaptação da prótese ao coto muscular e preenchimento total da cavidade anoftálmica (Rode, Rode, 1980).

Vários profissionais se destacaram na produção da prótese ocular, em diferentes partes do mundo: Leopold Panatt, Meissner e Monsalves no Chile com a Escola de Prótese Ocular e desenvolvimento dos procedimentos e técnicas da prótese ocular em resina acrílica; Gaspar Soares, Wilson Tupinambá e Eurico Kramer da região sul do Brasil; Gemaque Álvaro da região norte e Gamboa Varella da região nordeste do Brasil.

2.2 Classificação das Próteses oculares

As próteses oculares foram classificadas quanto ao tempo de instalação na cavidade anoftálmica e quanto à técnica de confecção. Quanto ao tempo, foram classificadas em três tipos: cirúrgicas, confeccionadas antes da cirurgia para manter e modelar a cavidade cirúrgica, não possuindo íris ou esclera; pós-cirúrgicas ou provisórias, confeccionadas após a cirurgia, estando a cavidade em condições de ser moldada; e restauradoras, confeccionadas após a adaptação do paciente à prótese provisória. Quanto à técnica de obtenção, foram classificadas em dois tipos, sendo elas, industrializadas, confeccionadas a partir de padrões pré-estabelecidos, encontradas em óticas e fornecidas por fábricas; e individualizadas, confeccionadas pela obtenção de um molde da cavidade anoftálmica e caracterizadas de acordo com as características do paciente (Rezende, 1986).

2.3 Resina acrílica e suas propriedades: estudos direcionados para confecção de prótese ocular

Com a busca do aprimoramento e aperfeiçoamento da prótese ocular, Gardner et al. (1993), propuseram a utilização do polivinilsiloxano na etapa final da confecção da prótese com o objetivo de diminuir a fase de polimento final no laboratório e Varella (1994), propôs um lençol de poliuretano na parte posterior da prótese com o intuito de minimizar os desgastes necessários na fase de polimento.

Com o passar dos anos, a preocupação com a durabilidade da resina acrílica e de suas propriedades cresceu e motivou muitos pesquisadores a realizarem estudos voltados para esse tema. Durante o processamento da prótese ocular em resina acrílica, podem ocorrer falhas como alteração dimensional e porosidade, e essas falhas estão diretamente relacionadas à durabilidade e função da prótese. As variáveis que podem influenciar nessas alterações são: expansão e contração térmica da resina acrílica; expansão e contração térmica do gesso; proporção de polímero e monômero; pressão durante a prensagem; absorção ou perda de água; tamanho e espessura da prótese; tipo e ciclo de polimerização. Essas falhas foram descritas por pesquisadores como Erpf (1953), Fonseca e Rode (1974), Rode e Rode (1980), Oliveira (1982) e Wolfaardt et al. (1986) entre outros.

Gonçalves et al. (2001) avaliaram a dureza e a resistência ao impacto da resina acrílica utilizada para a esclera de prótese ocular comparada a uma resina acrílica incolor. A resistência ao impacto mede a capacidade da peça em resistir à choques mecânicos e a dureza, a capacidade de manter o polimento do material por mais tempo sendo menos irritante à mucosa da cavidade. Foram confeccionados 15 corpos de prova retangulares com cada material (10 mm de largura

X 50 mm de comprimento X 2 mm de espessura) utilizando o ciclo longo para polimerização (9 horas a 74°C). Em seguida, foi realizado o acabamento e polimento. Os corpos de prova foram submetidos ao ensaio de resistência ao impacto, e em seguida ao teste de dureza Knoop em três regiões para obtenção do valor médio da dureza para cada corpo de prova. Os resultados indicaram valor de resistência ao impacto e o valor médio de dureza para a resina incolor de 88J/m e 18,3, respectivamente, e para a resina para esclera de 82J/m e 17,9. A diferença entre as médias das duas variáveis mensuradas nas duas resinas não foi significante estatisticamente. É importante ressaltar que os valores se apresentaram dentro dos valores aceitáveis clinicamente.

Goiato et al. (2004) analisaram a alteração dimensional linear e a porosidade de resina acrílica utilizada para prótese ocular quando polimerizadas por energia de micro-ondas, variando os materiais de inclusão. Foram obtidos 30 padrões em cera utilizando discos metálicos (1,5 cm de diâmetro X 0,5 cm de altura) incluídos em mufla. Após a obtenção dos trinta padrões em cera, eles foram distribuídos em seis conjuntos de cinco, sendo que três conjuntos foram incluídos com silicone Vipisil e gesso e outros três foram incluídos com silicone Zetalabor e gesso. Em seguida, a cera foi eliminada e a resina acrílica termopolimerizável N1 foi prensada e polimerizada em micro-ondas. Para a obtenção da íris, discos de cartolina (11 mm) foram pintados com três tintas diferentes (10 com tinta acrílica, 10 com tinta guache hidrossolúvel, 10 com tinta a óleo), todos na cor castanho escuro. Para secagem da pintura, os discos ficaram expostos diretamente a uma fonte de luz infravermelha por 2 horas. Em seguida, os discos foram colados com cola branca no centro do corpo de prova de resina acrílica N1 e depois prensados em prensa hidráulica com a resina acrílica termopolimerizável incolor e polimerizados por 3 minutos em micro-ondas obtendo-se os corpos de prova finalizados. A alteração dimensional linear foi mensurada com auxílio de um microscópio comparador. A porosidade foi mensurada por meio da contagem de poros com o auxílio de uma lupa estereoscópica. Os resultados foram submetidos ao teste Anova e teste de Tukey ($p<0,05$). As propriedades avaliadas foram influenciadas pelo silicone de inclusão e pela tinta utilizada na pintura da íris. Concluiu-se que os corpos de prova incluídos no silicone Zetalabor apresentaram menor porosidade e alteração dimensional, principalmente os pintados com tinta guache e acrílica, em relação aos incluídos em Vipisil. Os corpos de prova incluídos em silicone Vipisil e pintados com tinta a óleo apresentaram os piores resultados.

Fernandes et al. (2007) avaliaram a alteração de cor de íris pintadas com diferentes tintas, diferentes métodos de secagem e envelhecimento acelerado para próteses oculares polimerizadas por energia de micro-ondas. Foram confeccionados 40 corpos de prova

constituídos por um disco em resina acrílica para esclera e um disco de resina incolor termopolimerizáveis por energia de micro-ondas, intercalados com a pintura. Foram analisadas as tintas: acrílica hidrossolúvel, automotiva à base de nitrocelulose, guache hidrossolúvel e a óleo, na cor marrom, para os métodos de secagem natural e por radiação infravermelha. As tintas acrílica, automotiva e óleo foram aplicadas em 3 camadas sobre uma das superfícies dos discos de resina incolor; a tinta guache foi aplicada sobre discos de cartolina preta, que posteriormente foram colados sobre os discos de resina com cola branca. Após a aplicação de cada camada de tinta, cinco discos para cada uma das diferentes tintas foram mantidos em ambiente natural por 24 horas para secagem; os outros cinco discos de cada tinta foram submetidos à secagem por meio de luz infravermelha (lâmpada infravermelha E-27, de 250 watts e 130 volts a 30 cm dos discos durante 2 horas), com exceção da tinta guache que teve o tempo reduzido para 6 minutos. Os corpos de prova foram avaliados inicialmente e após 252, 504 e 1008 horas de envelhecimento acelerado, através de espectrofotometria. As alterações de croma e luminosidade foram avaliadas com o auxílio do espectrofotômetro de reflexão Color-Eye, com as alterações de cor calculadas pelo Sistema CIE L*a*b*. Os resultados foram analisados estatisticamente por Análise de Variância e teste de Tukey (p=0,05). Os resultados demonstraram que todas as tintas apresentaram alteração cromática quando submetidas ao envelhecimento acelerado, porém a tinta a óleo apresentou a maior resistência diante do processo, independentemente do método de secagem e período de envelhecimento; todas as tintas avaliadas apresentaram estabilidade cromática no período de envelhecimento de 252 horas, independentemente do método de secagem; com exceção da tinta guache hidrossolúvel, as demais tintas avaliadas apresentaram ótima estabilidade cromática, podendo ser empregadas na pintura de íris.

Em 2007, Goiato et al. analisaram a influência de dois tipos de inclusão, dois tipos de polimento e sessenta dias de armazenamento na rugosidade de próteses oculares em resina acrílica. Foram obtidos 24 corpos de prova (3 cm de diâmetro X 0,5 cm de espessura) em resina acrílica própria para confecção de prótese ocular, com mufla própria para polimerização em micro-ondas. Quanto aos tipos de inclusão, 12 corpos de prova foram incluídos em gesso especial tipo IV e 12 em silicone de condensação extra duro Zetalabor. Ao final, metade da amostra incluída em gesso especial tipo IV recebeu polimento mecânico e a outra metade, polimento químico (80°C por 10 segundos), assim como os espécimes incluídos com silicone extra duro. Após o polimento, os espécimes foram submetidos à primeira mensuração de rugosidade utilizando um rugosímetro digital (precisão de 0,01µm e percurso de medição de 6 mm). Foram obtidas 3 leituras em cada corpo de prova para obtenção de uma média. Em

seguida, a amostra foi armazenada em água destilada a 37°C em uma estufa por 60 dias e uma nova mensuração de rugosidade foi realizada, com a mesma metodologia descrita anteriormente. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e em seguida ao teste de Tukey ($p<0,05$). Para toda a amostra ocorreu um aumento da rugosidade após o tempo de armazenamento, porém os valores foram estatisticamente significantes para os corpos de prova submetidos ao polimento químico. Independentemente do tempo e do polimento, os corpos de prova incluídos em gesso apresentaram valores de rugosidade superficial maiores que aqueles incluídos em silicone.

Pereira (2007), em sua dissertação de mestrado, avaliou a interface tinta/material de selamento da íris protética, através de microscopia eletrônica, afim de verificar falhas e insucessos da pintura da íris e prensagem da íris na esclera. Foram confeccionados 40 corpos de prova sendo divididos em quatro grupos: Grupo 1: calotas despolidas utilizando polímero de acetato de vinila como selante; Grupo 2: calotas despolidas utilizando cianoacrilato como selante; Grupo 3: calotas polidas utilizando polímero de acetato de vinila como selante; Grupo 4: calotas polidas utilizando cianoacrilato como selante. Para o despolimento das calotas foram utilizadas lixas de granulação 120. O diâmetro das calotas foi padronizado em 13 mm. Para a pintura foi utilizada tinta acrílica na cor sépia e preto, sendo aplicada primeiro uma camada da cor sépia, que passou por secagem natural de 10 minutos, seguindo da aplicação da camada de tinta preta que secou naturalmente por 24 horas. Passado o período de secagem da pintura foi realizado o selamento das íris: os grupos 1 e 3 com cola de polímero de acetato de vinila e os grupos 2 e 4 com cola de cianoacrilato mais polímero de resina acrílica, que secaram por um período de 24 horas. Em seguida, as íris foram fixadas em um padrão circular de cera (15mm X 2mm), sobre elas foi feito um pino de resina para mantê-las em posição na contra mufla e o conjunto foi incluído. A cera foi eliminada e uma resina de lenta polimerização foi prensada, sendo os corpos de prova removidos após 10 horas. Para que os corpos de prova fossem analisados em lupa estereoscópica, para detecção de descolamentos entre a calota e a tinta (espelhamento), um corpo de prova de cada grupo foi escolhido aleatoriamente e foi fraturado no seu longo eixo, obtendo-se oito corpos de prova. Os espécimes foram fixados em suportes com a interface calota/tinta/selamento/resina acrílica para cima, sendo recobertos com uma camada de ouro (25 nm), examinados e fotografados em microscópio eletrônico de varredura. Através da avaliação dos ensaios e anotações dos pesquisadores, foi possível concluir que: um período mínimo de 24 horas para secagem da tinta e do material selador deve ser respeitado; microscopicamente a cola de polímero de acetato de vinila foi superior ao cianoacrilato em relação à impermeabilização da pintura; nos grupos selados com cola de polímero de acetato de

vinila a camada de tinta apresentou-se praticamente íntegra após a fratura e permaneceu em contato com ambos os materiais, sendo que suas estruturas se apresentaram mais definidas e organizadas; microscopicamente o despolimento da superfície plana da calota apresentou melhores resultados quanto à aderência tinta-calota em relação à calota polida; no selamento com cianoacrilato foi detectada uma área de extravasamento de resina acrílica para a interface calota-tinta, comprometendo o resultado final da peça protética.

Reis et al. (2008) avaliaram a estabilidade das tintas acrílicas usadas para replicação da cor da íris de próteses oculares antes e após a polimerização, bem como após o envelhecimento acelerado. Vinte espécimes em resina acrílica pintados com tinta acrílica nas cores azul, amarelo, preto, marrom e verde, foram submetidos à leitura de cor antes e após a polimerização da resina acrílica. Em seguida, os espécimes foram submetidos ao envelhecimento acelerado artificial com radiação ultravioleta A (3 semanas totalizando 504 horas; cada ciclo – 4 horas UVA a 60°C seguido de 4 horas de condensação a 50ºC) e foram realizadas leituras colorimétricas semanais durante três semanas. As leituras da cor foram calculadas em média e os testes de Levine e t de Student foram utilizados para analisar a influência da temperatura do processo de polimerização na estabilidade de cada cor utilizada na fabricação das próteses. O teste de Friedman foi usado para analisar a degradação de cor em função do tempo ($p<0,05$). Os resultados indicaram que a cor amarelo apresentou maior alteração após a polimerização. Após o envelhecimento acelerado, as menores alterações foram encontradas para as cores preto e marrom, seguidas do amarelo, verde e azul. Sendo assim, concluíu-se que a cor amarelo apresentou alterações acima dos níveis aceitáveis clinicamente em função do processo de polimerização; após o envelhecimento acelerado as cores marrom, preto foram as que apresentaram resultados em níveis aceitavéis clinicamente; a cor verde apresentou uma degradação ligeiramente acima dos níveis clinicamente aceitáveis, e a cor azul degradou-se a ponto de não ser aceitável para uso clínico.

Fernandes et al. (2009) estudaram a alteração de cor da íris pintada quando utilizadas diferentes tintas e cores. Foram confeccionados 40 corpos de prova (30 mm X 2 mm) constituídos por um disco em resina acrílica para esclera e um disco de resina incolor termopolimerizáveis por energia de micro-ondas, intercalados com a pintura. Foram analisadas as tintas: acrílica hidrossolúvel, automotiva à base de nitrocelulose, guache hidrossolúvel e a óleo, nas cores marrom e azul. A pintura dos discos foi realizada com a aplicação de 3 camadas de tinta sobre uma das superfícies dos discos de resina incolor, para a tinta acrílica, automotiva e a óleo e para a tinta guache, sobre discos de cartolina preta, que posteriormente foram colados sobre os discos de resina com cola branca. Após a aplicação de cada camada de tinta, os

espécimes foram secos naturalmente por 24 horas. Os corpos de prova foram avaliados inicialmente e após 252, 504 e 1008 horas de envelhecimento acelerado, através de espectrofotometria. As alterações de croma e luminosidade foram avaliadas com o auxílio do espectrofotômetro de reflexão Color-Eye, com as alterações de cor calculadas através do Sistema CIE L*a*b*. Os resultados foram analisados estatisticamente por Análise de Variância e teste de Tukey a 5% de significância. As pinturas sofreram alteração cromática quando submetidas ao envelhecimento acelerado, sendo que a tinta a óleo apresentou a maior resistência ao processo; a cor marrom apresentou maior estabilidade de cor quando comparada com a cor azul, independente da tinta e período de envelhecimento; a tinta a óleo apresentou excelente estabilidade de cor, independente da cor. Os olhos artificiais fabricados com pigmentos escuros têm uma vida útil mais longa.

Goiato et al. (2010a) avaliaram a mudança de cor de íris marrom e azul, obtidas por impressão de imagem digital ou por pintura com tinta guache, tinta acrílica e tinta a óleo, após polimerização por micro-ondas e envelhecimento acelerado. Uma matriz metálica de 15 mm de diâmetro foi utilizada para confeccionar discos em resina acrílica autopolimerizável incolor, os quais foram incluídos em mufla utilizando silicone e gesso pedra tipo III. Nos moldes obtidos, oitenta discos foram confeccionados com resina acrílica N1 e oitenta discos com resina acrílica incolor, ambos polimerizados por micro-ondas (1200W de potência durante 10 min – 3 minutos iniciais com 30% de potência; 4 minutos seguintes sem potência (0%); 3 minutos finais com 60% de potência). Com os discos, foram confeccionadas 80 amostras constituídas por um disco de resina acrílica colorida N1 e um disco de resina acrílica incolor com a íris interposta entre eles, simulando próteses oculares. No total, 60 íris foram obtidas pela técnica de pintura (20 com cada tipo de tinta) e vinte pela técnica de impressão da imagem digital. A pintura foi realizada em discos de cartão branco em três camadas e ao final, as íris foram deixadas para que secassem naturalmente por 24 horas. À tinta a óleo foi adicionado secador de cobalto (quantidade de 30% do peso da tinta) para acelerar a secagem e depois foi levada à luz infravermelha. As íris pintadas com tinta a óleo foram digitalizadas por uma câmera digital e lente macro, e vinte impressões foram realizadas em impressora a laser utilizando papel branco de 20lb com brilho 87, sendo dez para cada cor. Ao final, todas as íris receberam 3 aplicações de spray fixador impermeável e foram fixadas aos discos de resina acrílica N1 com o mesmo adesivo líquido. Em seguida, o conjunto discos de resina N1/íris foram fixados ao disco de resina incolor utilizando o mesmo adesivo. Assim, a primeira leitura de cor foi realizada após a pintura (B) e uma segunda leitura foi realizada após a polimerização (P) do conjunto. Os espécimes foram submetidos a 1008 horas de envelhecimento acelerado, sendo o processo

dividido em dois períodos: 504 horas (A1) e 1008 horas (A2), e após cada período os espécimes foram retirados, lixados, polidos com pedra-pomes para obtenção de nova leitura de cor. As leituras foram realizadas com espectrofotômetro utilizando o sistema CIE L*a*b* e as diferenças de cor foram calculadas para os períodos B e P, P e A1, P e A2. Os dados foram avaliados por ANOVA e teste de Tukey (P=0,05). Os resultados indicaram alterações de cor em todas as amostras após a polimerização e após o envelhecimento acelerado; as íris pintadas com tinta a óleo não sofreram alterações de cor influenciada pelo envelhecimento acelerado; para todas as técnicas de pintura, a polimerização promoveu menor alteração de cor quando comparada ao envelhecimento acelerado. Dessa forma, os pesquisadores concluíram que a pintura com tinta a óleo apresentou a maior estabilidade de cor, mesmo após o envelhecimento acelerado e a técnica de impressão digital apresentou os piores resultados.

Em 2010, Goiato et al. (b) analisaram a estabilidade de cor de três cores (N1, N2, N3) da resina acrílica para a prótese ocular quando submetida a dois diferentes polimentos e ao envelhecimento acelerado. Para a confecção dos 42 corpos de prova em resina acrílica, matrizes metálicas (15 mm de diâmetro X 2 mm de espessura) foram incluídas em gesso especial tipo III associado ao silicone Zetalabor. Em seguida, as matrizes foram removidas e a resina foi prensada nos moldes obtidos e polimerizada por micro-ondas. Após o acabamento, sete espécimes de cada grupo receberam polimento mecânico e sete receberam polimento químico (80°C por 10 segundos) e foram submetidos à leitura de cor. Em seguida, os corpos de prova foram posicionados em uma câmara de envelhecimento acelerado para corpos não metálicos (UVB e condensação para simular condições ambientais extremas), e as leituras de cor foram realizadas com os tempos de 252, 504 e 1008 horas com o axílio de espectrofotometria de reflexão ultravioleta. Os dados foram analisados com o teste ANOVA e teste de Tukey (P=0,05). Os resultados indicaram que todos os corpos de prova apresentaram alteração de cor estatisticamente significante após o envelhecimento acelerado de 252 e 1008 horas. A técnica de polimento não afetou a estabilidade de cor das resinas. A resina acrílica N1 apresentou a maior estabilidade de cor quando comparada às outras cores.

Canadas et al. (2010) avaliaram a estabilidade de cor, porosidade superficial e rugosidade da superfície de resinas acrílicas para esclera de prótese ocular quando polimerizadas por diferentes fontes de calor e submetidas ao envelhecimento acelerado. Padrões em cera foram obtidos por meio de matriz metálica de 15 mm de diâmetro X 5 mm de espessura e incluídos em mufla com gesso pedra tipo III e silicone. A partir dos moldes gerados na mufla, sessenta espécimes em resina acrílica termopolimerizável para esclera foram obtidos e divididos em três grupos de acordo com a polimerização: GI – ciclo curto; GII – ciclo longo;

GIII – calor seco. Após receberem acabamento, os espécimes tiveram uma camada de resina acrílica incolor prensada sobre eles, seguindo o mesmo cliclo de polimerização. Depois de sua confecção, os espécimes foram divididos em dois grupos: Grupo A – teste de alteração de cor e rugosidade; Grupo B – teste de porosidade. Foram realizadas leituras iniciais para alteração de cor (Espectrofotômetro; CIE $L^*a^*b^*$), para rugosidade (Perfilômetro, Surfcorder ESE 1700), e para porosidade (imersão dos corpos de prova em solução de tinta da Índia por 30 minutos e lavados em água corrente, com leitura da superfície por microscopia de luz polarizada a 60X de aumento). Em seguida os espécimes foram submetidos ao envelhecimento acelerado de 384 horas, e ao final foram realizadas novas leituras de cor, rugosidade e porosidade. Os resultados indicaram que houve alteração de cor significativa em todos os grupos; entre os grupos não houve diferença estatisticamente significante; independentemente do tipo de polimerização, o envelhecimento acelerado foi responsável pelas maiores alterações de cor. Quanto à rugosidade, os espécimes polimerizados pelo ciclo longo apresentaram menor rugosidade com diferença estatisticamente significante entre os o ciclo curto e o ciclo seco. Para a porosidade, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Os pesquisadores concluíram que independentemente do ciclo de polimerização utilizado, houveram grandes alterações de cor; o grupo polimerizado pelo ciclo seco apresentou a menor rugosidade inicial, sendo esta muito alterada pelo envelhecimento acelerado; a porosidade foi diretamente afetada pela sorção de água, sugerindo que a porosidade é diretamente proporcional ao tempo de contato da resina com a água.

Goiato et al. (2011a) compararam a estabilidade de cor de duas técnicas (pintura a óleo e imagem digital) para a reprodução de íris artificiais após a polimerização por micro-ondas. Foram confeccionados 40 corpos de prova (15,0 mm de diâmetro X 1,0 mm e 2,0 mm de espessura) com a resina acrílica N1 e 40 corpos de prova com a resina acrílica incolor, todos polimerizados em micro-ondas, para simular a prótese ocular . Quarenta íris foram obtidas nas cores azul e marrom, através de 2 técnicas, sendo com pintura a óleo sobre discos de cartão branco (15 mm diâmetro) e imagem digitalizada de íris pintadas com tinta a óleo (câmera digital com lente macro e flash – 125 segundos, foco 16 e sensibilidade ISO 640). As fotos foram avaliadas usando um software de imagem, em seguida foram impressas em discos (15 mm de diâmetro) com um papel branco (20 libras, brilho 87) utilizando uma impressora a laser. Após, todas as íris foram cobertas com 3 camadas de spray fixador impermeável e fixadas com adesivo líquido no disco de resina acrílica N1, sendo o conjunto incluído em mufla/silicone para prensagem e polimerização, em micro-ondas, de uma camada de resina incolor. Ao final os corpos de prova foram constituídos por um disco de resina acrílica N1 e um disco de resina

acrílica incolor com a íris entre eles. Foram realizadas leituras de cor antes e após a polimerização com o auxílio de um espectrofotômetro de reflexão. Os dados foram submetidos ao teste ANOVA e ao teste de Tukey ($p<0,05$). Os resultados indicaram que todos os corpos de prova sofreram alteração cromática. Houve diferença estatística significante entre os grupos obtidos por pintura com tinta a óleo e imagem digital, e não houve diferença estatística entre as cores azul e marrom. Conclui-se que, ambas as técnicas para obtenção de íris causaram alterações de cor após a polimerização por micro-ondas. Entretanto, a técnica de impressão digital da íris apresentou maior estabilidade de cor após a polimerização. As cores azul e marrom apresentaram o mesmo comportamento independentemente da técnica.

Em 2011b, Goiato et al. analisaram a estabilidade de cor de íris artificiais de prótese ocular polimerizadas por micro-ondas, variando o tipo de tinta, método de secagem e envelhecimento acelerado. Foram utilizadas tintas guache, acrílica, a óleo e automotiva na cor azul. Padrões em resina com 30 mm de diâmetro foram incluídos em mufla utilizando gesso pedra tipo III e a partir dos moldes obtidos, foram confeccionados 10 discos de resina acrílica termopolimerizável N1 para os espécimes pintados com tinta a guache e 30 discos de resina acrílica termopolimerizável incolor para os espécimes pintados com tinta acrílica, automotiva e a óleo, ambas polimerizados por micro-ondas. As íris foram obtidas pela pintura de discos de papel cartão e, após secagem, foram fixadas nos discos de resina utilizando cola branca. Grupos foram formados em função do tipo de tinta (guache, acrílica, a óleo e automotiva), e subgrupos, em função do tipo de secagem, sendo secagem natural da pintura (24 horas) e secagem com lâmpada infravermelha da pintura (distante 30 cm durante 2 horas). Foram realizadas leituras de cor após a pintura e após a polimerização dos corpos de prova. Em seguida, os espécimes foram submetidos a 1008 horas de envelhecimento acelerado divididos em quatro períodos: secagem (A1), 252 horas (A2), 504 horas (A3), 1008 horas (A4). Após cada período os corpos de prova eram lixados com lixa de granulação 1200 e polidos com pedra pomes e uma nova leitura de cor era realizada com um espectrofotômetro reflexivo. Os dados foram submetidos ao teste ANOVA e Teste de Tukey ($p = 0,05$). Todas as tintas sofreram alteração de cor após serem submetidas ao envelhecimento acelerado independentemente do método de secagem; a tinta a óleo demonstrou maior estabilidade de cor quando comparada aos demais tipos de tinta.

Em 2012, Mundim et al. avaliaram a estabilidade de cor de diferentes materiais utilizadas na pintura de íris para prótese ocular quando submetidas ao envelhecimento acelerado. Padrões em cera (16 mm X 3 mm) foram incluídos em muflas utilizando gesso pedra e nos moldes obtidos, a resina acrílica termopolimerizável foi prensada para a obtenção de 40 corpos de prova (16 mm X 2 mm). Íris de 14 mm de diâmetro foram pintadas nas cores azul e

marrom, em papel cartão. Para as tintas guache, acrílica e a óleo, a secagem da pintura ocorreu em ambiente natural por 72 horas. Resina composta (Fill Magic Cores, Vigodent SA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), nas cores azul e marrom para caracterização foi aplicada diretamente sobre a base de resina escleral com um diâmetro igual ao da íris e ativada por luz por 30 s. As íris foram fixadas com cola bastão nos corpos de prova e uma camada de 1 mm de resina acrílica termopolimerizável incolor foi prensada sobre o conjunto. Dessa forma, os 40 corpos de prova foram divididos em 8 grupos, de acordo com o material utilizado e a sua cor. Após o polimento, foi realizada a primeira leitura de cor dos espécimes, e em seguida os mesmos foram submetidos ao envelhecimento acelerado de 384 horas, sendo realizada uma nova leitura após esse período. Os dados foram submetidos ao teste ANOVA-Bonferroni ($p<0,05$). Os resultados demonstraram menor alteração de cor para os espécimes pintados com tinta acrílica e resina composta; diferença estatisticamente significante foi verificada entre os grupos pintados com tinta guache e a óleo na cor marrom, sendo que a maior alteração foi observada no grupo da tinta guache. Os pesquisadores concluíram que o grupo da pintura com tinta acrílica marrom apresentou valores clinicamente aceitáveis após o envelhecimento acelerado.

Rossi et al. (2012) avaliaram o efeito da polimerização da resina acrílica incolor sobre a estabilidade de cor de íris artificiais obtidas por diferentes técnicas e diferentes variações da proteção da tinta. Sessenta corpos de prova, simulando a prótese ocular, foram distribuídos em seis grupos (n=10) de acordo com a técnica utilizada: 1. PE: técnica convencional sem verniz; 2. PEV: técnica convencional com verniz; 3. CA: técnica com calota pré fabricada sem verniz; 4. CAV: técnica com calota pré fabricada com verniz; 5. PI: técnica da pintura invertida sem verniz; 6. PIV: técnica da pintura invertida com verniz. Foram realizadas leituras de cor antes e após a polimerização com o auxílio de um espectrofotômetro de reflexão ultravioleta visível, e os dados foram submetidos ao teste de ANOVA seguido de teste de Tukey ($p<0,05$). Todas as amostras apresentaram alteração de cor após a polimerização; a técnica PI apresentou os menores valores de alteração de cor; as técnicas PE e PI apresentaram valores de alteração de cor clinicamente aceitáveis, independentemente da aplicação do verniz; e as técnicas PE e CA tiveram uma melhora significativa na estabilidade de cor com a aplicação do verniz.

Em 2013, Watanabe et al. analisaram a estabilidade de cor de íris artificiais obtidas por diferentes técnicas, após a polimerização e envelhecimento acelerado. Foram confeccionados 60 corpos de prova representando a prótese ocular, e os mesmos foram distribuídos em seis grupos (n=10) de acordo com a técnica utilizada: 1. PE: técnica convencional sem verniz; 2. PEV: técnica convencional com verniz; 3. CA: técnica com calota pré fabricada sem verniz; 4.

CAV: técnica com calota pré fabricada com verniz; 5. PI: técnica da pintura invertida sem verniz; 6. PIV: técnica da pintura invertida com verniz. As leituras de cor foram realizadas antes e depois da polimerização, e após 252, 504 e 1008 horas, por meio de um espectrofotômetro de reflexão ultravioleta visível. Os dados foram submetidos ao teste de ANOVA seguido de teste de Tukey ($p<0,05$). Todas as amostras apresentaram alteração significativa de cor após a polimerização e envelhecimento acelerado, porém, as amostras com verniz protetor de tinta apresentaram uma menor alteração em todos os períodos analisados.

Bannwart et al. (2013) avaliaram a alteração de cor da íris para prótese ocular quando submetida a diferentes técnicas de pintura e aplicação de verniz após a polimerização da resina acrílica incolor. Os corpos de prova em resina acrílica foram obtidos por meio de uma matriz metálica (30 mm de comprimento X 20 mm de largura X 2 mm de espessura) com uma demarcação circular de 13 mm de diâmetro no centro, sobre a qual a íris foi posicionada. O conjunto foi incluído em mufla para polimerização em micro-ondas. Após a presa do gesso, o espaço da íris foi preenchido com silicone Zetalabor e o espaço da matriz retangular foi preenchido com resina acrílica termopolimrizável N1 e polimerizado em micro-ondas a 60% de potência máxima por 3 minutos. As íris foram obtidas de duas formas: pintura convencional em disco de papel ou pintura em calotas acrílicas pré-fabricadas. As iris foram pintadas com tinta a óleo marrom e para a secagem da pintura foi adicionado um agente secante de cobalto correspondente a 30% em peso da quantidade de tinta a óleo utilizada. A secagem final foi realizada utilizando a exposição direta a uma fonte de luz infravermelha. Os espécimes foram distribuídos em seis grupos de acordo com a técnica utilizada (n = 10): PE - técnica convencional (prensagem da resina acrílica termopolimerizável incolor sobre um disco de papel pintado); PEV - técnica convencional com verniz (prensagem da resina acrílica termopolimerizável incolor sobre um disco de papel pintado com aplicação de uma camada de verniz); CA - pré-fabricada (base da calota acrílica posicionada sobre a pintura do disco de papel); CAV - pré-fabricada com verniz (base da calota acrílica posicionada sobre a pintura do disco de papel e aplicação de uma camada de verniz); PI - pintura invertida (pintura realizada diretamente na calota acrílica); PIV - pintura invertida com verniz (pintura realizada diretamente na calota acrílica e aplicação de uma camada de verniz). As leituras de cor foram realizadas após a pintura e após a polimerização dos corpos de prova utilizando um espectrofotômetro. Os dados foram submetidos ao teste ANOVA e Tukey-Kramer's ($p<0,05$). Todos os fatores influenciaram a estabilidade de cor da íris após a polimerização; o grupo CA e CAV apresentaram os maiores valores de alteração de cor em comparação aos demais grupos;

os grupos CAV e PEV apresentaram alterações de cor mais significativas que seus grupos correspondentes sem o verniz CA e PE; os grupos PIV e PI apresentaram a melhor estabilidade de cor, sendo o grupo PIV com os menores valores de alteração de cor. Desse modo, os pesquisadores concluíram que, utilizar a técnica da pintura invertida (PI) proporciona menor alteração de cor das amostras; ambas as técnicas de PI e PE apresentaram valores clinicamente aceitáveis; o uso do verniz protetor aumentou a estabilidade de cor das amostras em 3 das técnicas utilizadas.

Reis e Dias (2013) avaliaram a estabilidade de cor de uma técnica de imagem fotográfica digitalizada para a confecção da íris protética, sob envelhecimento acelerado. Foi utilizada a máquina fotográfica Sony Cyber-Shot DSC-H2® no modo macro para obter a imagem da íris. A imagem foi transferida para o computador LG® e utilizando-se o Adobe Photoshop 7.0®, foram feitos ajustes para retirar os reflexos e definir o diâmetro da íris e as estruturas anatômicas. Foram obtidos 24 corpos de prova para a impressão em adesivo, sendo seis espécimes para cada cor: verde, azul, marrom e preto, sendo utilizada a escala do programa digital Power Point® para a obtenção de cores uniformes e monocromáticas. Posteriormente, foi feita a montagem em arquivo JPEG com as diferentes imagens obtidas, para impressão em adesivo, feita em uma máquina específica MIMAK® na empresa RTB – Impressão Digital, que usa tinta à base de solvente. Para o ensaio, 24 placas de acrílico incolor e 24 placas brancas foram cortadas em uma máquina de recorte com fresa AXYS Itália. Após a impressão da íris, o adesivo (transparente, modelo D600® - 3M) foi fixado na placa acrílica branca. Em seguida, a placa acrílica incolor foi fixada manualmente sobre o conjunto placa branca/ íris utilizando Super Bonder®, que também foi utilizado para vedar a junção entre as placas acrílicas. Foi realizada uma leitura de cor inicial e a cada semana, durante as 3 semanas em que os corpos de prova foram submetidos ao envelhecimento acelerado totalizando 504 horas do processo. Os dados foram submetidos a Análise de variância e Teste de Friedman ($p<0,05$). Os resultados mostraram que somente a cor azul apresentou diferença estatística significante, quando as cores foram avaliadas em função dos tempos do envelhecimento acelerado; nenhuma das cores apresentou uma degradação de cor acima do nível clinicamente aceitável; a técnica diminuiu os custos e tempo de confecção das próteses oculares, boa longevidade e possibilidade de armazenamento das imagens.

Em 2014, Andreotti et al. avaliaram a influência da adição de nanopartículas na estabilidade de cor, microdureza e resistência à flexão de resinas acrílicas N1 específicas para prótese ocular. Foram utilizados 300 corpos de prova de resina acrílica N1, sendo 100 corpos de prova para teste de estabilidade de cor e microdureza; e 200 corpos de prova foram usados

para o teste de resistência à flexão, sendo 100 corpos de prova usados antes do envelhecimento e os outros 100 para depois das 1.008 horas de envelhecimento acelerado. Os corpos de prova nos testes de cor e microdureza foram fabricados com o auxílio de uma matriz metálica em foma de disco (3 cm de diâmetro X 0,3 cm de espessura) incluída em mufla para polimerização em micro-ondas com gesso tipo IV e silicone Zetalabor. Os corpos de prova para o teste de resistência à flexão foram confeccionadas em resina acrílica incolor a partir de um padrão metálico (64 mm × 10 mm × 3,3 mm × 9 mm) incluído em mufla para polimerização em micro-ondas com gesso tipo IV e silicone Zetalabor. Após a confecção, as amostras foram separadas em dez grupos, de acordo com o tipo e a concentração da nanopartícula: **1.** Grupo controle (sem nanopartículas); **2.** Nanopartículas de óxido de zinco a 1%; **3.** Nanopartículas de óxido de zinco a 2%; **4.** Nanopartículas de óxido de zinco a 2,5%; **5.** Nanopartículas de dióxido de titânio a 1%; **6.** Nanopartículas de dióxido de titânio a 2%; **7.** Nanopartículas de dióxido de titânio a 2,5%; **8.** Nanopartículas de sulfato de bário a 1%; **9.** Nanopartículas de sulfato de bário a 2%; **10.** Nanopartículas de sulfato de bário a 2,5%. Os ensaios foram realizados antes e após o envelhecimento acelerado. A estabilidade de cor foi avaliada com o auxílio de um espectrofotômetro de reflexão ultravioleta visível. Para avaliação da microdureza superficial empregou-se um microdurômetro (carga 25gr por 10 segundos) e foram obtidas cinco leituras para cada corpo de prova e uma média final. Os ensaios de resistência foram realizados por meio de uma máquina de ensaios mecânicos utilizando a técnica dos três pontos (distância de 50 mm e peso de 100 kg), com módulo de ruptura e velocidade constante de 5 mm/min até a fratura ser detectada. Após os primeiros testes, os corpos de prova foram submetidos ao envelhecimento acelerado por 1008 horas, cada ciclo com 12 horas (8 horas de luz ultravioleta a 60°C, e 4 horas de condensação a 45°C). Os dados foram submetidos a análise estatística com ANOVA e teste de Tukey ($p<0,05$). Antes do envelhecimento houve uma diferença significativa na resistência à flexão entre o grupo controle e os que receberam as nanopartículas. A incorporação de nanopartículas influenciou diretamente as propriedades da resina acrílica, sendo o dióxido de titânio o mais influente. Entre os grupos de nanopartículas, os grupos de dióxido de titânio apresentaram a melhor estabilidade de cor em todas as concentrações. Os valores de microdureza aumentaram após o envelhecimento artificial, com exceção dos grupos controle e com óxido de zinco. Com isso concluiu-se que as nanopartículas influenciaram diretamente as propriedades da resina acrílica, proporcionando maiores valores de estabilidade de cor e microdureza e menores valores de resistência à flexão, quando comparadas ao grupo controle, após o envelhecimento acelerado. O envelhecimento acelerado foi um fator causador de degradação do polímero, alterando as propriedades da resina acrílica N1. A resistência à

flexão foi bastante prejudicada pela adição das nanopartículas, embora os resultados estejam dentro do padrão clinicamente aceitável.

Em 2015, Nagay et al. analisaram o efeito do glaze fotopolimerizável sobre a rugosidade das resinas acrílicas próprias para a confecção de prótese ocular. quarenta e oito corpos de prova em forma de discos (10 mm de diâmetro x 3 mm de espessura) foram separados em quatro grupos (n=12): 1. G1 – Resina acrílica na cor N1 sem glaze fotopolimerizável; 2. G2 – Resina acrílica incolor sem glaze fotopolimerizável; 3. G3 – Resina acrílica na cor N1 com glaze fotopolimerizável; 4. G4 – Resina acrílica incolor com glaze fotopolimerizável. Após a prensagem e acabamento dos espécimes, foi realizado o polimento nas granulações 400, 600 e 800. Adicionalmente nos grupos G1 e G2 foram utilizadas lixas 1000 e 1200 e solução diamantada em disco de feltro, e nos grupos G3 e G4, os corpos de prova foram recobertas com verniz fotopolimerizável MegaSeal. A rugosidade foi avaliada com perfilometro, antes e após o envelhecimento acelerado (1008 horas) das amostras em 10 corpos de prova de cada grupo realizando 3 leituras na superfície de cada espécime. Dos outros 2 corpos de prova de cada grupo, 1 corpo de prova foi utilizado para o teste de microscopia de força atômica (MFA) e o outro para a avaliação de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva. Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística com análise de variância e teste de Tukey ($p<0,05$). Os resultados indicaram que os grupos recobertos com glaze apresentaram maior alteração de rugosidade após o envelhecimento. Por meio da microscopia de força atômica e microscopia eletrônica de varredura, foi verificado aumento da irregularidade de superfície dos corpos de prova de todos os grupos. Conclui-se que o glaze e o envelhecimento acelerado comprometeram a rugosidade das resinas acrílicas utilizadas em próteses oculares.

Em 2015, Moreno et al., investigaram os efeitos da técnica de fabricação da prótese ocular e da pintura sobre a estabilidade de cor da íris antes e depois da polimerização da resina acrílica termopolimerizável incolor. Matrizes metálicas (30 mm de comprimento X 20 mm de largura X 2 mm de espessura), com uma demarcação circular de 13 mm de diâmetro no centro, para o posicionamento da íris, foram incluídas em mufla para polimerização em micro-ondas. Após a presa do gesso, o espaço da íris foi preenchido com silicone Zetalabor e o espaço da matriz retangular foi preenchido com resina acrílica termopolimerizável N1 e polimerizado em micro-ondas a 60% de potência máxima por 3 minutos. Em seguida foram obtidas as íris pintadas em discos de papel cartão para a técnica convencional e pré-fabricada e em calota acrílica ocular para a técnica da pintura invertida, todos com tinta a óleo marrom sépia e azul.

Para a secagem da pintura foi adicionado um agente secante de cobalto correspondente a 30% em peso da quantidade de tinta a óleo utilizada e a secagem final foi realizada utilizando a exposição direta a uma fonte de luz infravermelha. Os grupos foram formados de acordo com a cor e técnica utilizada para a pintura (n = 10): Técnica convencional (prensagem da resina acrílica termopolimerizável incolor sobre um disco de papel pintado); Pré-fabricada (base da calota acrílica posicionada sobre a pintura do disco de papel); Pintura invertida (base da calota acrílica pintada). As amostras foram mantidas em solução salina por 50±2 horas em incubadora bacteriológica digital a 37°C±2°C para mantê-las hidratadas e eliminar o monômero residual. A cor da íris foi mensurada por espectrofotometria de reflexão pelo sistema CIE L*a*b* antes e depois da polimerização da resina acrílica termopolimerizável incolor. Os dados foram submetidos ao teste ANOVA e teste de Tukey ($p<0,05$). Houve diferença estatisticamente significante em função das cores e técnicas utilizadas. Todas as amostras apresentaram alteração de cor, sendo a técnica da pintura invertida na base da calota acrílica a que apresentou os maiores valores de alteração de cor para ambas as cores; as íris pintadas na cor sépia apresentaram menor alteração de cor, independentemente da técnica, quando comparadas às íris azuis. Não houve diferença estatisticamente significante entre as técnicas de pintura invertida e convencional para a cor azul. Para a cor sépia, a técnica invertida apresentou a menor alteração de cor. Dessa forma, os pesquisadores concluíram que, ambas as cores em todas as técnicas demonstraram uma tendência a um aumento na iluminação e brilho; a técnica da pintura invertida apresentou a maior alteração de cor para ambas as cores; a cor sépia apresentou os menores valores de alteração de cor quando comparado a cor azul; a técnica convencional e a técnica invertida foram consideradas clinicamente aceitáveis para a cor sépia.

Alfenas et al., em 2018 descrevem um método simples, pela aplicação da teoria das rodas de cores de Newton, para a pintura de uma íris artificial de tons escuros e claros, fornecendo uma escolha segura durante o procedimento de pintura com pigmentos cerâmicos. Na roda, as cores de número par são as primárias e secundárias, os números ímpares são as cores terciárias. A partir de cores primárias podem ser obtidas cores secundárias, terciárias (intermediárias) ou complementares. O uso de cores primárias ou secundárias podem gerar cores terciárias, que localizam-se entre as primária e secundária na roda de cores. Cores complementares (em posições diametralmente opostas na roda), quando em proporções iguais formam preto ou cinza escuro. A teoria diz que, cores complementares em proporções desiguais correspondem às cores da íris humana localizada ao redor da pupila e zona média. Os autores indicam a pintura utilizando uma calota ocular, pincéis delicados, pigmentos cerâmicos (corante mineral) e um xarope de uma mistura de 10 partes de monômero e 1 de polímero incolor

(monopólio), iniciando pela pupila e zona peripupilar, seguido da zona média(mistura do preto e da cor básica da íris), halo externo (cor base clareada ou escurecida) e cor de base, recomendando a adição de preto às cores usadas para remover a transparência da cor. Após a pintura são realizados os processos para a confecção de uma prótese ocular. Na técnica apresentada, os materiais e processos para a confecção da prótese não parecem degradar a pintura. Entretanto, estudos são necessários para avaliar a cor após o envelhecimento da prótese.

2.4 Viabilidade Celular: estudos direcionados para prótese ocular

Com o desenvolvimento de técnicas embasadas em experiências clínicas e pesquisas, e estas estando bem definidas e sedimentadas, os pesquisadores passaram a investigar novos aspectos relacionados a essa área. Aspectos como a interação do material da prótese e suas técnicas de confecção, com os tecidos da cavidade anoftálmica.

Borra et al. (2009) avaliaram um para medir a viabilidade celular em ensaios de proliferação e citotoxicidade, utilizando o corante de resazurina, com o objetivo de desenvolver um método simples, barato e preciso, baseado na mensuração da redução da resazurina através de uma câmera digital. Foram comparadas a capacidade do método da câmera digital com a de um leitor de microplacas convencional, para distinguir diferentes concentrações de linhas celulares de fibroblasto bucal L929 e normal. Esse corante foi amplamente utilizado como indicador de viabilidade celular em vários tipos de ensaios para avaliação da biocompatibilidade de materiais médicos e dentários, onde as enzimas mitocondriais portadoras das atividades da diaforase, são responsáveis pela transferência de elétrons de NADPH+ e H+ para a resazurina que é reduzida a resorufin. Esse nível de redução pode ser quantificado com o uso de um espectrofotômetro, pois a resazurina exibe um pico de absorção a 600ηm e a resorufin a 570ηm de comprimentos de onda. Entretanto, a necessidade de um espectofotômetro e filtros específicos pode ser uma barreira para muitos laboratórios. As câmeras digitais com filtros vermelhos, verdes e azuis, e que permitem a captura de comprimentos de onda de luz vermelha (600 a 700 ηm) e verde (500 a 600 ηm), intervalos próximos dos de absorção de resazurina e resorufin, podem ser usadas como um método alternativo. Foi feita a correlação através do coeficiente de Pearson, e os resultados mostraram uma forte associação entre as medidas do leitor de microplacas e do método desenvolvido com as câmeras digitais e com as concentrações celulares. Concluiu-se que o sistema de quantificação colorimétrico desenvolvido com a câmera digital permitiu uma avaliação das concentrações celulares de forma confiável, rápida, com equipamentos simples e custo reduzido.

Medeiros et al. (2015) analisaram a toxicidade da resina acrílica de prótese ocular na presença de pigmento acrílico sobre as células da conjuntiva humana, por meio da análise da proliferação celular e da produção de citocinas pró-inflamatórias e de proteínas de matriz extracelular. Foram produzidos nove corpos de prova em formato de disco utilizando materiais de confecção da prótese ocular, e os mesmos foram distribuídos em 3 grupos: 1. R – Apenas resina acrílica branca; 2. RP – Resina com pigmento; 3. P – Apenas pigmento acrílico. Os corpos de prova foram imersos em um meio de cultura 199 suplementado com 10% de soro fetal bovino e incubados em estufa à 37ºC por 72 horas para a formação do extrato, e a posterior exposição destes sobre as células da conjuntiva humana por também 72 horas. O grupo controle foi realizado com poços contendo somente o meio de cultura, e os ensaios realizados para a análise de citotoxicidade foram os de MTT, ELISA e RT-PCR. O ensaio de MTT avaliou a viabilidade celular, o ensaio de ELISA a produção das citocinas IL1β, IL6 e TNF α e quimiocina CCL3/MIP1α, e o ensaio de RT-PCR a expressão de RNAm para COL IV, TGF β e MMP9. Os dados foram submetidos ao teste ANOVA com posterior aplicação do teste de Bonferroni ($p<0,05$). Os autores concluíram que os materiais apresentaram comportamentos divergentes em relação aos testes, não sendo observada citotoxicidade dos materiais sobre a linhagem celular. Entretanto, o grupo com a resina pigmentada demonstrou maior concentração de IL6, e o grupo confeccionado apenas em resina acrílica apresentou a maior expressão gênica de COL IV, MMP9 e TGF β, sendo este último, semelhante ao grupo controle.

Da Silva et al. (2016a) avaliaram o efeito citotóxico de diferentes métodos de polimerização da resina acrílica própria para a confecção da prótese ocular, em uma linhagem celular conjuntival humana. A análise foi feita através da análise da proliferação celular, produção de citocinas pró-inflamatórias e expressão de proteínas da matriz extracelular relacionadas à remodelação do tecido e ao reparo de uma linhagem celular conjuntival humana. Nove corpos de prova em resina acrílica foram distribuídos em 3 grupos: 1. G1 – Polimerização em banho-maria; 2. G2 – Polimerização por micro-ondas; 3. G3 – Autopolimerização. Após a confecção, os espécimes foram imersos em meio de cultura 199 suplementado com 10% de soro fetal bovino e incubados em estufa à 37ºC por 72 horas para a formação do eluato, para posterior exposição destes sobre as células da conjuntiva humana por também 72 horas. Um meio sem espécimes foi utilizado como controle negativo. Foram realizados os ensaios de MTT, ELISA e RT-PCR. O ensaio de MTT foi realizado para a avaliação da viabilidade celular e do efeito citotóxico, o ensaio de ELISA foi realizado para a avaliação da produção de IL1β, IL6, TNFα e CCL3 / MIP1a, e o ensaio de RT-PCR para avaliar a expressão de ARNm de COL IV,

TGFβ e MMP9. Os dados foram submetios ao teste de ANOVA com posterior teste de Bonferroni ($p<0,05$). A resina polimerizada por energia de micro-ondas apresentou pequena citotoxicidade com a redução da viabilidade celular e aumento da produção de IL6. A resina polimerizada em banho maria demonstrou níveis aumentados da produção de mRNA de COL IV, MMP9 e TGFβ, sendo estes semelhantes aos do grupo controle.

Da Silva et al. (2016b) analisaram a toxicidade da resina acrílica de prótese ocular na presença ou não do pigmento acrílico sobre as células da conjuntiva humana, por meio da análise da proliferação celular e da produção de citocinas pró-inflamatórias e de proteínas de matriz extracelular. Foram produzidos 9 corpos de prova em formato de disco utilizando materiais usados para a confecção da prótese ocular, e os mesmos foram distribuídos em 3 grupos: 1. R – Resina acrílica branca sem pigmento; 2. RP – Resina com pigmento; 3. P – Apenas pigmento acrílico. O pigmento foi adicionado de forma intrínseca (na mistura da resina acrílica). Um espécime adicional de cada grupo foi confeccionado para a análise da composição química da superfície, realizada pela espectroscopia de energia dispersiva (EDS). Os corpos de prova para a citotoxicidade foram imersos em um meio de cultura 199 suplementado com 10% de soro fetal bovino e incubados em estufa à 37ºC por 72 horas para a formação do extrato, e a posterior exposição destes sobre as células da conjuntiva humana por também 72 horas. O grupo controle foi realizado com poços contendo somente o meio de cultura, e os ensaios realizados para a análise de citotoxicidade foram os de MTT, ELISA e RT-PCR. O ensaio de MTT avaliou a viabilidade celular, o ensaio de ELISA a produção das citocinas IL1β, IL6 e TNF α e quimiocina CCL3/MIP1α, e o ensaio de RT-PCR a expressão de RNAm para COL IV, TGF β e MMP9. Os dados foram submetidos ao teste ANOVA com posterior aplicação do teste de Bonferroni. Com os resultados pode-se concluir que os materiais apresentaram comportamentos divergentes em relação aos testes, não sendo observada citotoxicidade dos materiais sobre a linhagem celular. O grupo do pigmento demonstrou menor porcentagem de proliferação celular e pela análise de EDS foram detectados os elementos alumínio (Al) e silício (Si) na sua superfície; o grupo da resina pigmentada demonstrou maior concentração de IL6, e na análise de EDS foram detectados os elementos químicos carbono (C), oxigênio (O) e silício (Si); o grupo confeccionado apenas em resina acrílica apresentou a maior expressão gênica de COL IV, MMP9 e TGF β.

3. Proposição

O presente projeto teve como objetivo a execução de um estudo in vitro para avaliar:

1. O efeito de diferentes técnicas de caracterização da prótese ocular sobre a porosidade, rugosidade e dureza da resina acrílica e viabilidade celular de fibroblastos;
2. O efeito de diferentes tempos de secagem da pintura/agentes de proteção da pintura da íris e substratos de fixação da íris, sobre a alteração de cor da íris.

A hipótese nula do estudo foi que:

1. As diferentes técnicas de caracterização da prótese ocular em resina acrílica não produziriam efeitos sobre as propriedades avaliadas ou sobre a viabilidade celular;
2. Os tempos de secagem da pintura/tipos de agente de proteção e substratos de fixação da íris, não produzirão efeito sobre a cor da íris.

4. Materiais e Métodos

4.1 Desenho experimental:

Trata-se de um estudo *in vitro* para obtenção de dados quantitativos sobre a porosidade, rugosidade e dureza da resina acrílica, assim como a viabilidade celular de fibroblastos e a alteração de cor da íris protética. Para melhor entendimento do estudo, ele foi dividido em parte 1 e 2.

Parte 1:

Para as variáveis porosidade, rugosidade e dureza, foram formados três grupos, sendo:

C – Grupo Controle: Resina acrílica termopolimerizável N1 + resina acrílica incolor termopolimerizável;

G1 – Grupo 1: Resina acrílica termopolimerizável N1 + caracterização direta com pigmento acrílico vermelho e monopólio + resina acrílica incolor termopolimerizável;

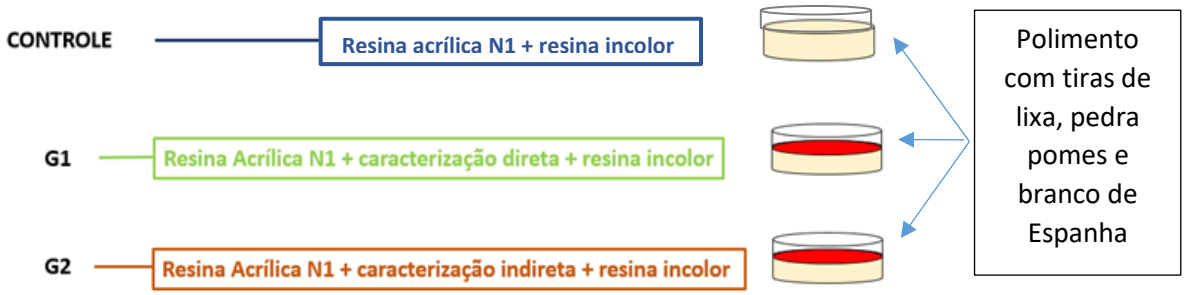
G2 – Grupo 2: Resina acrílica termopolimerizável N1 + caracterização indireta com pigmento acrílico vermelho + resina acrílica incolor termopolimerizável.

Todas as variáveis foram mensuradas após o polimento com discos de feltro, pedra pomes e branco de espanha em politriz de bancada.

Foram empregados um total de 30 corpos de prova, sendo: 3 grupos x 10 repetições.

A figura 1 mostram a representação esquemática dos corpos de prova para mensuração da porosidade, rugosidade e dureza.

Figura 1a – Representação esquemática dos corpos de prova.



Fonte: Própria

Figura 1b – Corpos de prova para ensaios de porosidade, rugosidade e dureza.

Fonte: Própria

Para a variável viabilidade celular, foram formados cinco grupos, sendo (Figura 2):

GC – Grupo controle: corpos de prova em resina acrílica termopolimerizável N1 sem caracterização;

GC1 – Grupo de caracterização direta: corpos de prova em resina acrílica termopolimerizável N1 caracterizados diretamente;

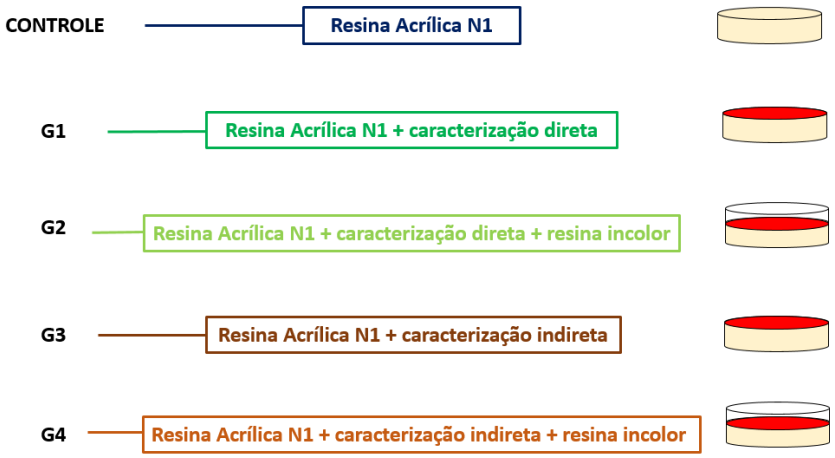
GC2 – Grupo de caracterização direta e recoberto: corpos de prova em resina acrílica termopolimerizável N1 caracterizados diretamente e recobertos com resina incolor;

GC3 – Grupo de caracterização indireta: corpos de prova em resina acrílica termopolimerizável N1 caracterizados indiretamente;

GC4 - Grupo de caracterização indireta e recoberto: corpos de prova em resina acrílica termopolimerizável N1 caracterizados indiretamente e recobertos com resina incolor.

Foram obtidos 40 corpos de prova por grupo para avaliação da morfologia celular por Fluorescência Direta (24 horas com n = 4; após 3 dias com n = 4); atividade mitocondrial das células fibroblásticas por MTT (após 3dias com n = 4; após 7 dias com n = 4; após 10 dias com n = 4) e expressão de proteínas de matriz extracelular RNAm para COL IV, TGF β, MMP9, IL1β, IL6 e TNF α e CCL3/MIP1α por RT-PCR (após 7 dias com n = 20).

Figura 2a – Representação esquemática dos grupos experimentais para viabilidade celular



Fonte: Própria

Figura 2b – Corpos de prova dos grupos experimentais para viabilidade celular

Fonte: Própria

Parte 2:

Para a variável alteração de cor, foram formados seis grupos em função do tempo de secagem (1 hr, 24 hr) da pintura e do agente de proteção da íris, os quais foram divididos em subgrupos em função do substrato de fixação (cera amarela ou resina acrílica N1) (Figura 3). No total foram obtidos 60 corpos de prova, sendo 10 para cada grupo e cinco para cada subgrupo. A mensuração da cor foi realizada em quatro tempos:

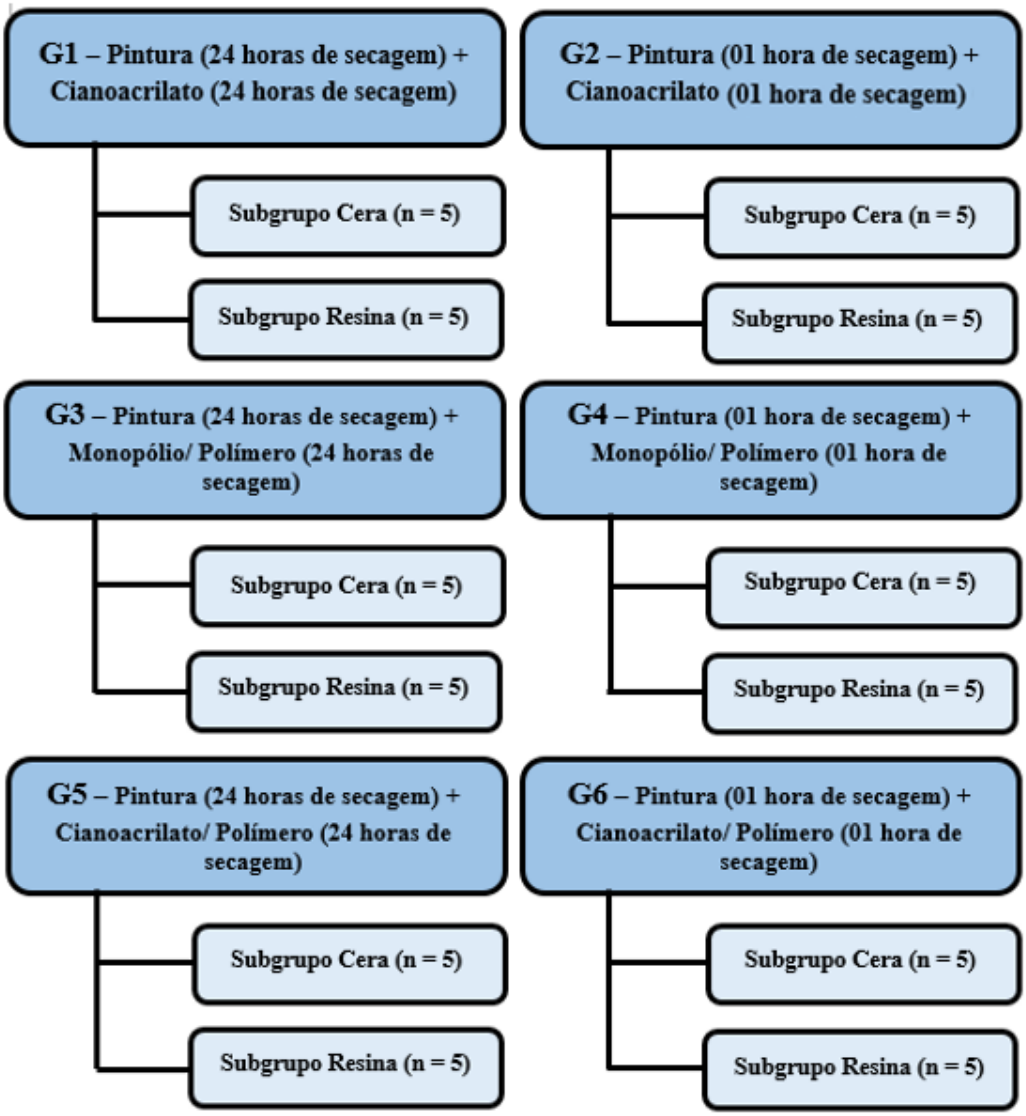
T1 – Imediatamente após o tempo de secagem da camada de proteção;

T2 – Após a confecção da prótese ocular;

T3 – Após 14 dias de armazenamento da prótese em água a 37ºC;

T4 – Após 28 dias armazenamento da prótese em água a 37ºC.

Figura 3 - Fluxograma dos grupos e subgrupos para avaliação da alteração de cor da íris



Fonte: Própria

Parte 1: Efeito de diferentes técnicas de caracterização da prótese ocular sobre a porosidade, rugosidade e dureza da resina acrílica e viabilidade celular de fibroblastos:

4.2 POROSIDADE, RUGOSIDADE e DUREZA

4.2.1 Obtenção dos corpos de prova e formação dos grupos:

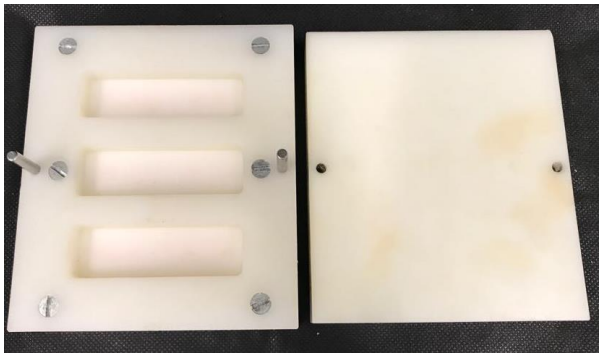
Para obtenção dos corpos de prova, laminas de cera nº 9 (Polidental, Indústria e Comércio Ltda., Cotia, SP, Brasil) foram preparadas nas espessuras de 3 mm, 2 mm e 1,5 mm e cortadas com cortador metálico afiado com 12 mm de diâmetro, obtendo-se assim, padrões em cera circulares (Figura 4) com a espessura variando de acordo com cada grupo de caracterização ou controle.

Estes padrões de cera foram posicionados em uma caixa de teflon (10 cm de comprimento x 2 cm de largura x 2 cm de profundidade) (Figura 5) e recobertos com silicone para inclusão (Zetalabor, Zhermack, Rovigo, Italy) (Figura 6). A caixa foi fechada com tampa e parafuso e levada em prensa hidráulica a 1.100 Kgf (Prensa Hidráulica – Protecni, Protecni Equip. Med., Araraquara, SP, Brasil) até a polimerização do silicone. Na sequência o conjunto, padrões em cera e silicone foram incluídos em mufla metálica nº 6 (OGP Produtos Odontológicos Ltda., São Paulo, SP, Brasil) e gesso pedra tipo III (Asfer, Indústria Química Ltda, São Caetano do Sul, SP, Brasil) e após a presa do gesso, a mufla foi aberta e a cera removida, obtendo-se assim, o molde para prensagem da resina acrílica (Figura 7).

Figura 4 – Padrão em cera com 12 mm x 3 mm, 2 mm e 1,5 mm de espessura

Fonte: Própria

Figura 5 – Caixa de Teflon

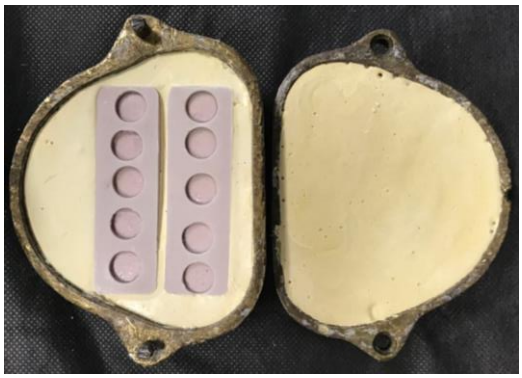


Fonte: Própria

Figura 6 – Silicone Zetalabor

Fonte: Própria

Figura 7 – Mufla com Silicone Zetalabor



Fonte: Própria

Uma vez obtidos os moldes, procedeu-se a obtenção dos corpos de prova em resina acrílica de acordo com cada grupo:

GC - Grupo Controle: Resina acrílica termopolimerizável na cor N1 (Artigos Odontológicos Clássico Ltda., Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) foi manipulada na proporção de 21 g de polímero X 7 mL de monômero, de acordo com as instruções do fabricante (Figura 8), acondicionada na mufla com os moldes nas dimensões de Ø 12 mm x 2 mm e prensada em presa hidráulica com 1.100 Kgf (Figura 9), onde permaneceu por 60 minutos para descanso da resina. Em seguida, a resina foi polimerizada em polimerizadora automática (Termocicler 100, Oficina de Precisão, Campus de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil) (Figura 10), em banho de água, onde a mufla foi colocada em água em temperatura ambiente, atingindo 73ºC em 20 minutos. A temperatura se manteve em 73°C por 01 hora. Em seguida a temperatura aumentou para 94ºC em 20 minutos e foi mantida nessa temperatura por meia hora. Após a polimerização, as muflas foram mantidas em bancada até o seu resfriamento, para na sequência serem abertas para remoção dos corpos de prova. Todos os copos de prova

receberam acabamento para remoção de rebarbas com peça reta (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) e fresas multilaminadas (Maxicut, Malleifer AS, Ballaiguer, Suíça) e polimento da superfície com lixa d'água de granulação 220, 320, 400 e 1200 (Norton, Norton Saint-Gobain, Guarulhos, Brasil) em politriz horizontal (Arotec, Aropol E, Cotia, SP, Brasil), em ambos os lados (Figura 11). Em seguida, os corpos de prova foram reposicionados em muflas de 3 mm e uma camada de resina acrílica incolor termopolimerizável foi prensada sobre eles, obtendo-se assim, 1 mm de espessura da resina incolor. A resina acrílica incolor (Artigos Odontológicos Clássico Ltda., Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) foi manipulada de acordo com as instruções do fabricante, acondicionada sobre a superfície dos corpos de prova e o conjunto foi prensado em prensa hidráulica com 1.100 Kgf, onde foi mantido por 60 minutos. Em seguida, foi realizada a polimerização seguindo o mesmo ciclo utilizado para resina acrílica N1. Após o resfriamento da mufla, os corpos de prova receberam acabamento para remoção de rebarbas com peça reta e fresas multilaminadas, e polimento da superfície com lixa d'água de granulação 220, 320, 400 e 1200 em ambos os lados. Os corpos de prova receberam polimento com discos de feltro, pedra pomes e branco de espanha, foram lavados em água corrente e mantidos em temperatura ambiente por 24 horas, para então, serem submetidos à leitura de porosidade.

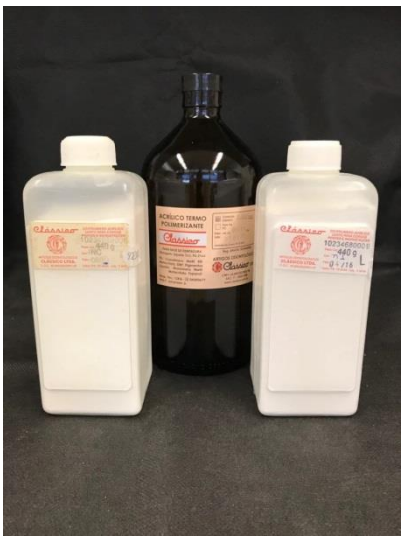
Os mesmos padrões de manipulação da resina, prensagem, polimerização e acabamento foram seguidos para os grupos 1 e 2.

G1 - Grupo 1: A resina acrílica termopolimerizável N1 foi manipulada, prensada na mufla com os moldes nas dimensões de Ø 12 mm x 1,5 mm e polimerizada. Após a primeira polimerização, todos os copos de prova receberam acabamento para remoção de rebarbas e polimento da superfície em ambos os lados. Em seguida, 0,015 g de pigmento acrílico vermelho (Artigos Odontológicos Clássico Ltda. Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) e 0,004 g de monopólio foram pesados em balança de precisão (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) aplicados, pela técnica da adição com pincel, sobre cada corpo de prova, os quais foram mantidos em temperatura ambiente sobre a bancada para polimerização por um período de 24 horas (Figuras 12 e 13), obtendo-se assim, uma camada de 0,5 mm de pigmento. O monopólio foi obtido no Laboratório de Pesquisa em Reabilitação Oral por meio da manipulação de 24 g de polímero incolor e 6 mL de monômero termopolimerizável (Artigos Odontológicos Clássico Ltda. Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) em banho maria a 50ºC por 30 minutos. Em seguida, os corpos de prova foram reposicionados na mufla de 3 mm de profundidade para a prensagem da resina acrílica incolor termopolimerizável (Artigos Odontológicos Clássico Ltda. Campo Limpo Paulista, SP, Brasil), para que assim, os corpos de prova apresentassem 1 mm de espessura da resina incolor. A resina acrílica incolor foi manipulada de acordo com as

instruções do fabricante, acondicionada sobre a superfície caracterizada dos corpos de prova e o conjunto foi prensado em prensa hidráulica com 1.100 Kgf, onde foi mantido por 60 minutos. Em seguida, foi realizada a polimerização seguindo o mesmo ciclo utilizado para resina acrílica N1. Após o resfriamento da mufla, os corpos de prova receberam acabamento para remoção de rebarbas com peça reta e fresas multilaminadas, e polimento da superfície com lixa d'água de granulação 220, 320, 400 e 1200 em ambos os lados. Em seguida, os corpos de prova receberam polimento com discos de feltro, pedra pomes e branco de espanha, foram lavados em água corrente e mantidos em temperatura ambiente por 24 horas, para então, serem submetidos à leitura de porosidade.

G2 - Grupo 2: Para este grupo, 0,015 g do pigmento acrílico vermelho foi depositado, com auxílio de um pincel fino, no fundo dos moldes com dimensões de Ø 12 mm x 2 mm. A resina acrílica termopolimerizável N1 foi manipulada de acordo com as orientações do fabricante e, na fase plástica, foi acondicionada no interior dos moldes, prensada em prensa hidráulica com 1.100 Kgf e mantida em descanso por 60 minutos. Em seguida, a resina foi polimerizada da mesma forma que para os demais grupos, resfriada em bancada em temperatura ambiente e os corpos de prova foram removidos. Todos receberam acabamento para remoção de rebarbas com brocas multilaminadas e polimento da superfície com lixa d'água de granulação 220, 320, 400 e 1200 em ambos os lados. Em seguida, os corpos de prova foram reposicionados nas muflas com moldes nas dimensões de Ø 12 mm x 3 mm, com a superfície caracterizada voltada para fora do molde. A resina acrílica incolor termopolimerizável foi manipulada, acondicionada sobre a superfície pigmentada e o conjunto foi prensado em prensa hidráulica com 1.100 Kgf. Após 60 minutos, as muflas foram levadas para polimerização e, após o resfriamento, os corpos de prova receberam acabamento com fresas multilaminadas para remoção das rebarbas e polimento da superfície com lixa d'água de granulação 220, 320, 400 e 1200 em ambos os lados. Os espécimes receberam polimento com discos de feltro, pedra pomes e branco de espanha, foram lavados em água corrente, secos com papel absorvente e após 24 horas, foram submetidos à leitura de porosidade.

Figura 8 – Resina N1, Resina Incolor e Monômero



Fonte: Própria

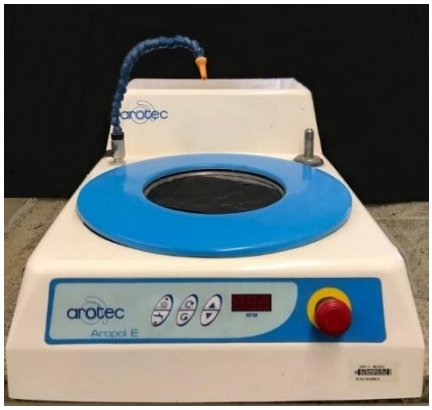
Figura 9 – Prensa Hidráulica

Fonte: Própria

Figura 10 – Termopolimerizadora

Fonte: Própria

Figura 11 – Politriz



Fonte: Própria

Figura 12 – Monopólio e Pigmento acrílico

Fonte: Própria

Figura 13 – Balança de Precisão

Fonte: Própria

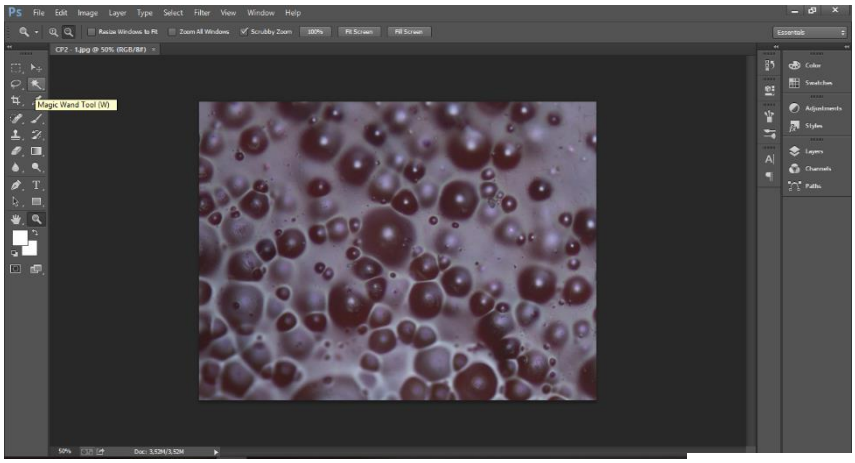
4.2.2 Ensaio de porosidade de superfície:

A porosidade foi mensurada em imagens obtidas por meio do microscópio invertido Nikon Eclipse MA100 (Nikon Corporation, Japão, Kawasaky, Kanagawa) (Figura 14) em objetiva de 20x, que utiliza o software NIS Elements Basic Research (Nikon Corporation, Japão, Kawasaky, Kanagawa). Essas imagens iniciais foram processadas no software Photoshop versão 14 64-bit (Adobe Photoshop, Estados Unidos, San José, Califórnia), a fim de reduzir o background e as sombras (Figura 15). Foi utilizada a ferramenta “seleção manual” com tolerância de 32 (Figura 16) e os ajustes foram feitos utilizando a ferramenta “borracha” (Figura 17). Em seguida, as imagens foram convertidas em imagens limpas em formato binário (preto e branco), utilizando o software Image J 1.45s, com os comandos: "processo / binário / tornar binário” (Figuras 18 a 20). Para calcular a área da região escura, aplicou-se o comando "plugins / analisar / calculadora área" às imagens binárias (Figura 21). O programa foi calibrado para a escala do microscópio utilizado na captura das imagens. Para quantificação da porosidade, os corpos de prova foram divididos em quadrantes e foram realizadas quatro imagens por corpo de prova. Para cada quadrante foi calculado o percentual de área de porosidade em relação à área total da imagem. Ao final, foram obtidos 4 valores de porosidade por corpo de prova para obtenção de média final.

Figura 14 – Microscópio Invertido

Fonte: Própria

Figura 15 – Redução das sombras e background no Programa Photoshop

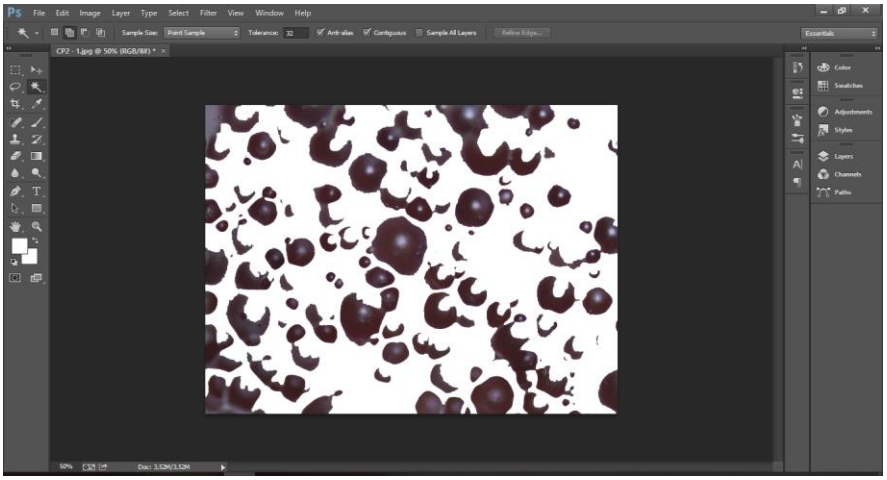


Fonte: Própria

Figura 16 – Porosidades selecionadas

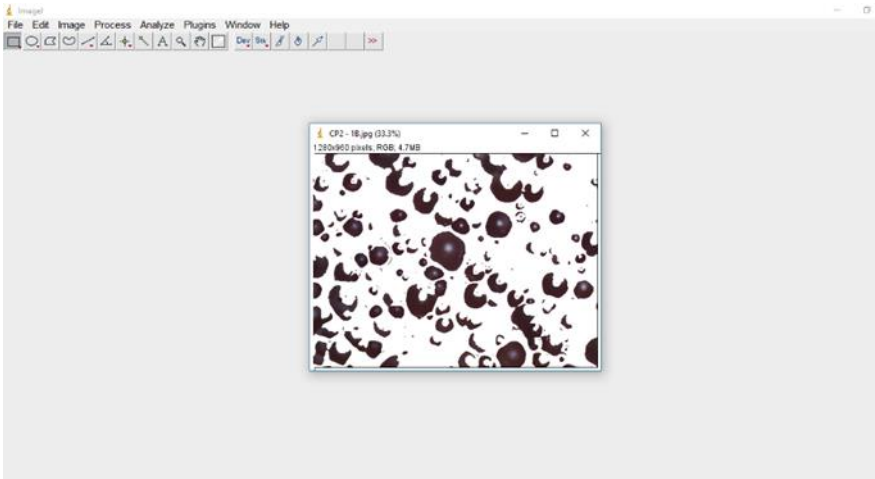
Fonte: Própria

Figura 17 – Foto editada com porosidades mantidas



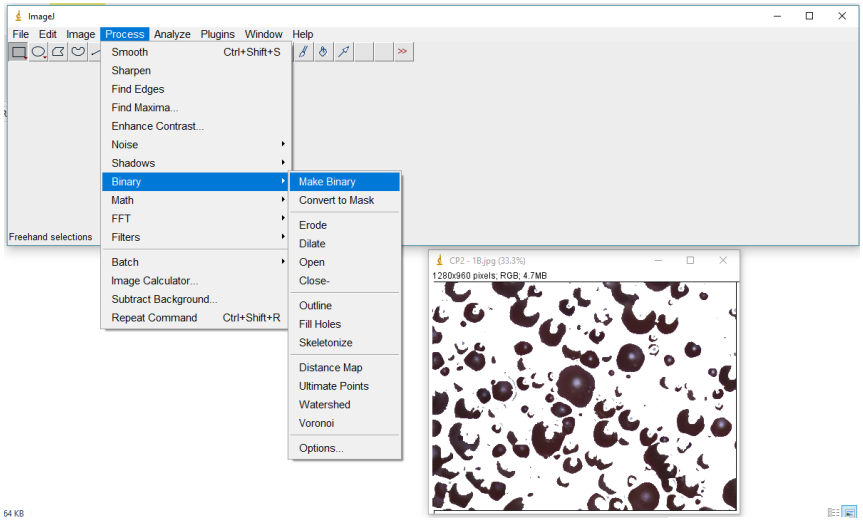
Fonte: Própria

Figura 18 – Programa Image J



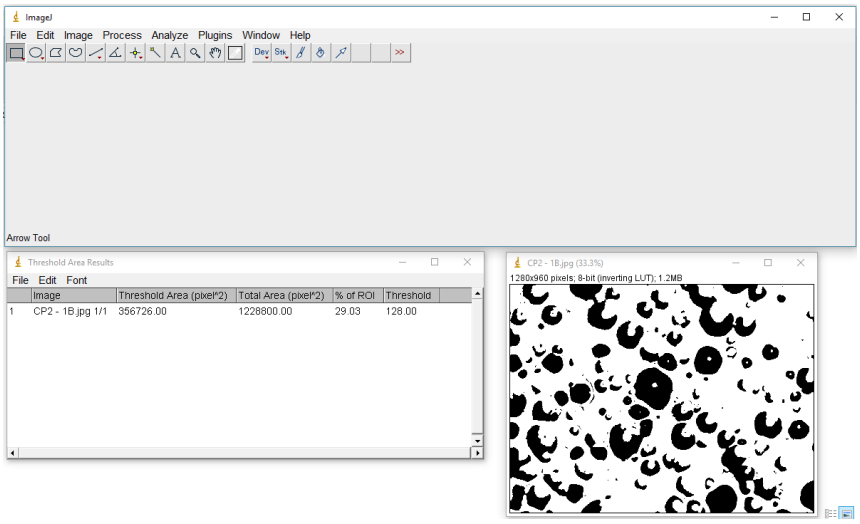
Fonte: Própria

Figura 19 - Conversão das imagens em formato binário



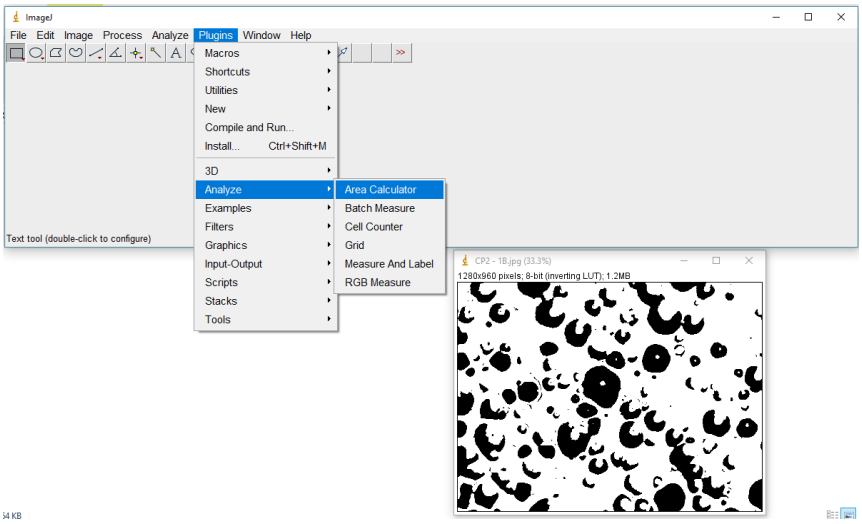
Fonte: Própria

Figura 20 - Cálculo da área da região escura



Fonte: Própria

Figura 21 – Porcentagem de porosidade por área total da foto



Fonte: Própria

4.2.3 Ensaio de rugosidade de superfície:

O ensaio de rugosidade foi realizado em Rugosímetro (modelo Surftest SJ – 201P, Mitutoyo Corporation, Tokyo, Japão) (Figura 22) com 5 cut off de 0,8 mm em cada leitura, sendo que a ponta da agulha percorreu 4,8 mm com velocidade Fonte: Própria 0,5 mm/s, considerando 0,4 mm para aceleração e 0,4 mm para desaceleração da agulha durante a leitura. O ensaio seguiu a norma ABNT/NBR/ISO 4287:2002. Foram obtidas 3 mensurações: uma central, uma a 1 mm para direita e outra a 1 mm para a esquerda do centro. O valor final da rugosidade para cada corpo de prova foi obtido através do cálculo da média das 3 mensurações.

Figura 22 – Rugosímetro

Fonte: Própria

4.2.4 Ensaio de Microdureza de superfície:

A dureza Knoop foi mensurada com o auxílio do microdurômetro "Microhardness Tester Shimadzu - HMV-2" (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) (Figura 23) com carga de 25 g por 5 s em cada leitura. Cada corpo de prova foi dividido em 4 quadrantes, sendo cada um deles submetido a uma leitura. O valor final da dureza para cada corpo de prova foi obtido através do cálculo da média entre os 4 valores encontrados. A dureza Knoop é dada pela fórmula: KNH = $\frac{P}{A} = \frac{P}{C_P\, L^2}$, onde KHN é o número da dureza Knoop, P é a carga aplicada em kgf, A é a projeção da área não recuperada da endentação em mm^2, L é o comprimento medido da diagonal maior da endentação em mm, C_p é uma constante – fator de correção relacionado ao formato do penetrador (0,07028).

Figura 23 – Microdurômetro

Fonte: Própria

4.3 VIABILIDADE CELULAR:

4.3.1 Obtenção dos corpos de prova e formação dos grupos:

A viabilidade celular foi realizada após 24 horas da confecção e esterilização dos corpos de prova, pelo método do contato direto dos espécimes com a cultura celular.

Para a obtenção dos corpos de prova, lâminas de cera nº 9 (Polidental, Indústria e Comércio Ltda., Cotia, SP, Brasil) foram preparadas nas espessuras de 3 mm, 2 mm e 1,5 mm e cortadas com cortador metálico afiado com 12 mm de diâmetro, obtendo-se assim, padrões em cera circulares (Figura 4) com a espessura variando de acordo com cada grupo de caracterização ou controle.

Estes padrões de cera foram posicionados em uma caixa de teflon (10 cm de comprimento x 2 cm de largura x 2 cm de profundidade) (Figura 5) e recobertos com silicone para inclusão (Zetalabor, Zhermack, Rovigo, Italy) (Figura 6). A caixa foi fechada com tampa e parafuso e levada em prensa hidráulica a 1.100 Kgf (Prensa Hidráulica – Protecni, Protecni Equip. Med., Araraquara, SP, Brasil) até a polimerização do silicone. Na sequência o conjunto, padrões em cera e silicone foram incluídos em mufla metálica nº 6 (OGP Produtos Odontológicos Ltda., São Paulo, SP, Brasil) e gesso pedra tipo III (Asfer, Indústria Química Ltda, São Caetano do Sul, SP, Brasil) e após a presa do gesso, a mufla foi aberta e a cera removida, obtendo-se assim, o molde para prensagem da resina acrílica (Figura 7).

Uma vez obtidos os moldes, procedeu-se a obtenção dos corpos de prova em resina acrílica de acordo com cada grupo:

GC – Grupo controle: corpos de prova sem caracterização obtidos na espessura de 3 mm com resina acrílica termopolimerizável para esclera na cor N1. A resina acrílica termopolimerizável na cor N1 (Artigos Odontológicos Clássico Ltda., Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) foi manipulada na proporção de 21 gr de polímero X 7 mL de monômero, de acordo com as instruções do fabricante (Figura 8), acondicionada na mufla com os moldes nas dimensões de Ø 12 mm x 3 mm e prensada em presa hidráulica com 1.100Kgf (Figura 9), onde permaneceu por 60 minutos para descanso da resina. Em seguida, a resina foi polimerizada em polimerizadora automática (Termocicler 100, Oficina de Precisão, Campus de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil) (Figura 10), em banho de água, onde a mufla foi colocada em água em temperatura ambiente, atingindo 73ºC em 20 minutos. A temperatura se manteve em 73°C por 01 hora. Em seguida a temperatura aumentou para 94ºC em 20 minutos e foi mantida nessa temperatura por meia hora. Após a polimerização, as muflas foram mantidas em bancada até o seu resfriamento, para na sequência serem abertas para remoção dos corpos de prova. Os copos de prova receberam acabamento para remoção de rebarbas com peça reta (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) e fresas multilaminadas (Maxicut, Malleifer AS, Ballaiguer, Suíça) e polimento da superfície com lixa d'água de granulação 220, 320, 400 e 1200 (Norton, Norton Saint-Gobain, Guarulhos, Brasil) em politriz horizontal (Arotec, Aropol E, Cotia, SP, Brasil) (Figura 11), em ambos os lados.

GC1 – Grupo de caracterização direta: corpos de prova em resina acrílica termopolimerizável N1 obtidos na espessura de 2 mm e caracterizados diretamente pela adição de pigmento (0,015 g pesados na balança de precisão) na cor vermelha e monopólio (Figuras 12 e 13) pela técnica do pincel;

GC2 – Grupo de caracterização direta recoberto: corpos de prova em resina acrílica termopolimerizável N1 obtidos na espessura de 1,5 mm e caracterizados diretamente pela adição de pigmento (0,015 g pesados na balança de precisão) na cor vermelha e monopólio pela técnica do pincel. Após 30 minutos da caracterização, os corpos de prova foram reposicionados na mufla de 3 mm de profundidade para o recobrimento com uma camada de 1 mm de resina acrílica incolor termopolimerizável (Artigos Odontológicos Clássico Ltda., Campo Limpo Paulista, SP, Brasil), manipulada de acordo com as instruções do fabricante, e polimerizados em banho de água segundo ciclo citado acima;

GC3 – Grupo de caracterização indireta: corpos de prova em resina acrílica termopolimerizável N1 obtidos na espessura de 3 mm e caracterizados na mufla. Os moldes obtidos em silicone na mufla receberam 0,015 g de pigmento (pesados em balança de precisão) na cor vermelha que foi depositado com o auxílio de um pincel fino no fundo do molde. Em seguida, a resina acrílica N1 foi manipulada, acondicionada no molde, prensada e polimerizada como já descrito anteriormente.

GC4 - Grupo de caracterização indireta recoberto: corpos de prova em resina acrílica termopolimerizável N1 obtidos na espessura de 2 mm e caracterizados indiretamente pela adição de 0,015 g de pigmento acrílico vermelho (pesado em balança de precisão) depositado com o auxílio de um pincel fino no fundo do molde de silicone. A resina acrílica foi manipulada e polimerizada como descrito anteriormente. Após o resfriamento, os corpos de prova receberam acabamento com fresas nas laterais e foram reposicionados na mufla de silicone com moldes de 3 mm de profundidade para recobrimento com uma camada de 1 mm de resina acrílica incolor termopolimerizável, manipulada e polimerizada como já citado anteriormente.

Todos os copos de prova receberam acabamento para remoção de rebarbas e polimento da superfície com peça reta (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) e fresas multilaminadas (Maxicut, Malleifer AS, Ballaiguer, Suíça), lixa d'água de granulação 220, 320, 400 e 1200 (Norton, Norton Saint-Gobain, Guarulhos, Brasil) em politriz (Arotec, Aropol E, Cotia, SP, Brasil).

4.3.2 Esterilização dos corpos de prova:

Para a eliminação de micro-organismos contaminantes do meio ambiente, os corpos de prova foram expostos à esterilização por plasma de peróxido de hidrogênio (Sterrad®), com a nebulização do produto na concentração de 7,5% por 30 minutos. Esse método de esterilização é classificado como físico-químico e a eliminação dos micro-organismos é realizada pela

oxidação dos radicais livres, sendo necessário controlar a pressão, tempo, temperatura, energia do plasma e concentração do peróxido de hidrogênio.

4.3.3 Cultura de Células:

As células fibroblásticas foram obtidas pela *American Type Culture Collection* (NIH/3T3 ATCC® CRL-1658), e foram propagadas durante 7 dias em frascos contendo o meio de cultura D-MEM (Gibco Invitrogen Corp., Carlsbad, California, EUA), 10% de soro fetal bovino (Gibco Invitrogen Corp.), 50 µg/mL gentamicina (Gibco Invitrogen Corp.), 50 µg/mL vancomicina (Across), 0,3 µg/mL fungizona (Gibco Invitrogen Corp.), até a confluência de 70%. Após esse período, o meio de cultura foi removido e os frascos foram lavados com PBS; foram adicionados 9,5 mL de solução de tripsina a 0,25% (Gibco), 500 µL de colagenase tipo II e 500 µL de EDTA a 1 mM (Gibco), e os frascos foram mantidos em estufa a 37ºC por 5 minutos para a suspensão celular. Em seguida a tripsina foi inativada com uma quantidade suficiente de meio de cultura para interromper a ação enzimática e a suspensão foi centrifugada utilizando o aparelho MSE Mistral 1000 (MSE Ltda., London, Inglaterra), por 5 minutos a 2000 rpm à temperatura ambiente, para que os precipitados celulares fossem ressuspendidos. Em seguida, as células foram adicionadas a um volume igual de corante azul de tripan 0,1% (Acros Organics) e foram utilizados para contagem celular em hemocitômetro (Fischer Scientific, PA, EUA), sendo determinado uma densidade de 2×10^4 células/poço. As culturas foram mantidas em incubadora (Sanyo Eletric Co.) a 37ºC em atmosfera umidificada com 5% de gás carbônico (CO_2) e 95% de ar atmosférico, e o meio de cultura foi trocado a cada 48 horas.

4.3.4 Mensuração da viabilidade celular:

4.3.4.1 Fluorescência Direta:

Para a avaliação da morfologia celular, depois de 24 horas e 72 horas, as células que foram cultivadas sobre os corpos de prova de cada grupo foram fixadas em solução de paraformaldeído 4% (Labsynth, São Paulo, Brasil), em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2, por 10 minutos à temperatura ambiente. A permeabilização foi feita com solução de Triton X-100 (Across Organics, NY, EUA) 0,5% em tampão fosfato por 10 minutos. Foram utilizados marcadores para a visualização do citoesqueleto e do núcleo celular, sendo respectivamente, faloidina conjugada com Alexa Fluor 488 (Molecular Probes, Invitrogen, OR, EUA) 1:200, e 4´6-diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride (DAPI, Molecular Probes). Os corpos de prova foram montados com meio de montagem anti-fade em lamínulas de vidro, para a leitura em

microscópio de epifluorescência Axio Imager (Zeiss, Thornwood, NY, Estados Unidos) com uma lente de aumento de 20X, sendo o microscópio acoplado a uma câmera fotográfica digital AxionCam MRm (Zeiss, Thornwood, NY, Estados Unidos). As imagens foram feitas separadamente para visualização do citoesqueleto em verde e do núcleo celular em azul. Após a aquisição das imagens, as mesmas foram sobrepostas com o auxílio do programa Adobe Photoshop (Adobe Photoshop, Estados Unidos, San José, Califórnia) para que as células fossem visualizadas integralmente.

4.3.4.2 Ensaio de MTT:

A viabilidade celular foi realizada em triplicata pela realização do ensaio colorimétrico de MTT {brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliol]} (Sigma). O MTT é um sal que é reduzido em cristais de formazan (cor púrpura) por proteinases mitocondriais ativas somente em células viáveis. Os cristais de formazan se precipitam no fundo do poço, podendo ser quantificados com o uso da espectrofotometria. Nos tempos de 3, 7 e 10 dias, o meio de cultura foi removido e os poços lavados com PBS a 37ºC, em seguida foram preenchidos com 1 mL de meio de cultura contendo MTT à 10% (5 mg/mL) e incubados a 37°C por 4 horas. Após esse período o sobrenadante foi aspirado e os cristais solubilizados com 1 mL de solução de isopropanol ácido (100 mL de isopropanol – Merck, em 134 µL de ácido clorídrico a 0,04 N – Merck). As placas foram agitadas por 10 minutos para a solubilização do precipitado e uma alíquota de 150 µL de cada poço foi transferida para uma nova placa. A absorvância foi avaliada por meio de um espectrofotômetro µQuant (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, EUA) utilizando o comprimento de onda de 570 nm.

4.3.4.3 Ensaio de RT-PCR:

A reação de polimerase em cadeia (RT-PCR) foi realizada em duplicata após 7 dias para a análise quantitativa da expressão dos genes para colágeno tipo IV (COL IV), metaloproteinase de matriz 9 (MMP9) e fator de transformação do crescimento β (TGF β), IL1β, IL6, TNF α e CCL3/MIP1α. O sobrenadante foi desprezado e uma alíquota de 1 mL do reagente Trizol (Gibco Invitrogen Corp.) foi adicionado aos precipitados celulares para que ocorresse a lise completa das células. As amostras foram homogeneizadas por pipetagem e mantidas à temperatura ambiente durante 15 minutos para a completa dissociação dos complexos de nucleoproteínas. Após esse período as amostras foram transferidas para tubos de 2 mL (Eppendorf AG, Hamburg, Hamburg, Alemanha) e para cada 1 mL de Trizol (Gibco Invitrogen Corp.) foram adicionados 200 µL de clorofórmio (Merck KGaA, Darmstadt,

Hessen, Alemanha). Os tubos foram agitados por 30 segundos e em seguida mantidos em repouso por 5 minutos à temperatura ambiente. Em seguida as amostras foram centrifugadas no aparelho AccuSpin Micro R (Fisher Scientific, Schwerte, Mecklenburg- Vorpommern, Alemanha), a 12000 g por 15 minutos a 4°C. As fases aquosas superiores foram coletadas em novos tubos de 2 mL (Eppendorf AG) e mantidas em banho de gelo picado. Para a precipitação do RNA, uma alíquota de isopropanol (Merck KGaA) na proporção de 1:1 foi adicionada sobre a solução coletada de cada tubo e as amostras foram homogeneizadas por inversão seguindo estocagem por 72 horas a −20ºC. Passado esse período, os tubos foram centrifugados em aparelho AccuSpin Micro R (Fisher Scientific), a 4°C por 10 minutos a 12000 g, para a obtenção do precipitado de RNA total. Posteriormente, esse precipitado foi lavado com etanol 75% (Merck KGaA), preparado com água previamente tratada com dietilpirocarbonato (DEPC) (Sigma-Aldrich). Para o preparo da água foi adicionado 1 mL de DEPC (Sigma-Aldrich) em 999 mL de água deionizada, sendo essa mistura incubada por 24 horas e autoclavada por 30 minutos a 120 mmHg. Os tubos foram novamente centrifugados no aparelho AccuSpin Micro R (Fisher Scientific), a 4°C por 5 minutos a 7500 g, sendo essa etapa de lavagem e centrifugação repetida por duas vezes. Após lavagem com etanol 75%, as amostras foram deixadas por 5 minutos em gelo picado para evaporação do etanol sobressalente. Os precipitados de RNA formados foram dissolvidos em 20 µL de água previamente tratada com DEPC (Sigma- Aldrich) e para quantificação das amostras de RNA total, uma alíquota de 3 µL foi diluída em 297 µL de água previamente tratada com DEPC (Sigma-Aldrich) e analisada por espectrofotometria em aparelho GeneQuant 1300 (GE Healthcare, Uppsala, Co. Uppsala, Suécia). A leitura foi realizada nos comprimentos de onda de 260 nm, 280 nm e 230 nm, para obtenção da concentração de RNA/µL e para avaliação da contaminação por fenol ou proteínas. A reação de transcrição reversa não foi realizada em função dos resultados obtidos.

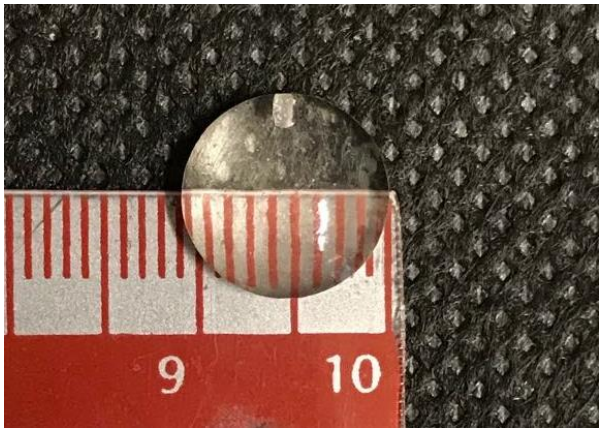
Parte 2: Efeito de diferentes tempos de secagem da pintura/agentes de proteção da pintura da íris e substratos de fixação da íris, sobre a alteração de cor da íris.

4.4 ALTERAÇÃO DE COR:

4.4.1 Obtenção dos corpos de prova:

Calotas acrílicas para íris artificiais (Artigos Odontológicos Clássico Ltda., São Paulo, São Paulo, Brasil) foram recortadas para o diâmetro de 11 mm (Figura 24), receberam uma marcação para que o seu posicionamento na matriz empregada durante a leitura de cor, e foram pintadas com tinta acrílica (Acrilex, São Bernardo dos Campos, São Paulo, Brasil) (Figura 25), nas cores preta (nº 320) para a pupila e fundo final (Figura 26 e 29); Sépia (nº 396) para o halo externo (Figura 27); marrom Vandik (nº 337) para a cor base (Figura 28).

Figura 24 – Íris recortada

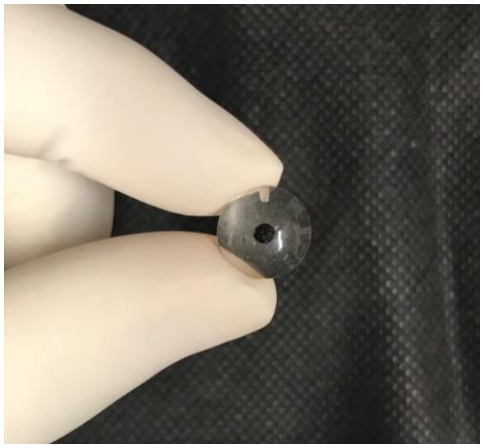


Fonte: Própria

Figura 25 – Tintas Acrílicas

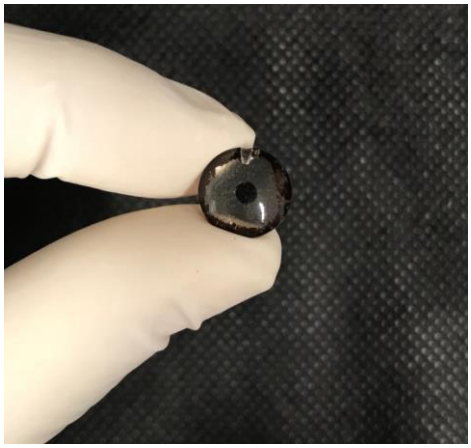
Fonte: Própria

Figura 26 – Pintura da pupila



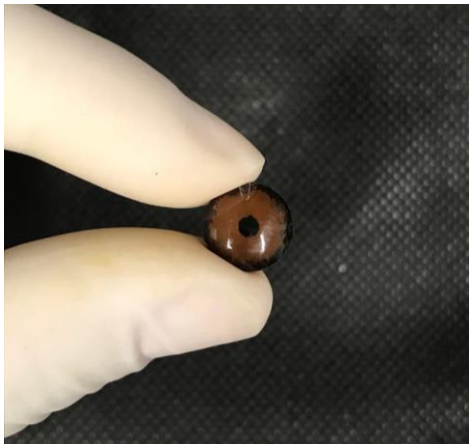
Fonte: Própria

Figura 27 – Pintura do halo externo



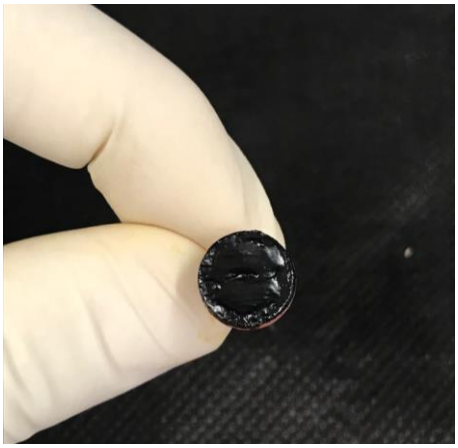
Fonte: Própria

Figura 28 – Pintura da cor base



Fonte: Própria

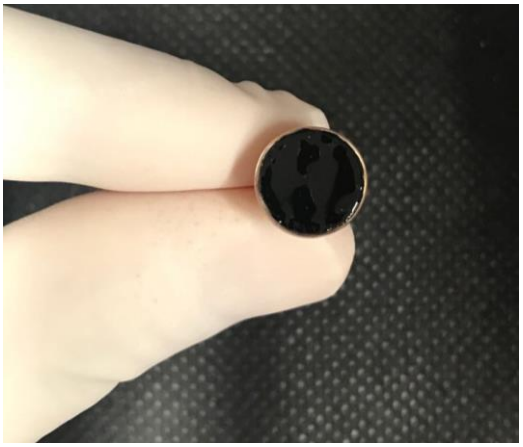
Figura 29 – Pintura do fundo



Fonte: Própria

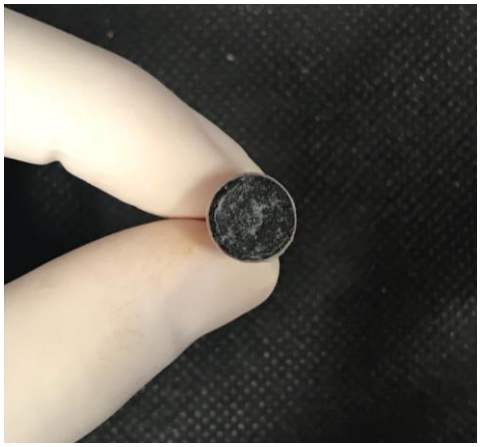
Após a pintura e respeitado o tempo de secagem de cada grupo, as íris receberam uma camada do agente de proteção, sendo eles o cianoacrilato (Super Bonder, Henkel, Düsseldorf, Alemanha) ou monopólio obtido no Laboratório de Pesquisa em Reabilitação Oral pela manipulação de 24 g de polímero incolor e 6 mL de monômero termopolimerizáveis (Clássico, Artigos Odontológicos Clássico Ltda. Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) em banho maria a 50ºC por 30 minutos. Uma gota de cada agente protetor foi colocada sobre o centro e espalhada com um instrumento rombo sobre toda a superfície e bordas laterais da íris (Figura 30). Para os grupos que associaram cianoacrilato e polímero ou monopólio e polímero, após a aplicação dos agentes, asíris foram imediatamente imersas (1 segundo) em polímero incolor termopolimerizável, possibilitando a formação de uma camada uniforme com o pó (Figuras 31 e 32).

Figura 30 – Aplicação do cianoacrilato



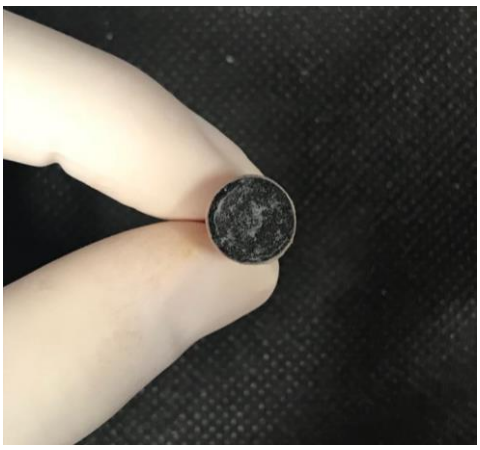
Fonte: Própria

Figura 31 – Aplicação do monopólio e polímero



Fonte: Própria

Figura 32 – Aplicação do monopólio e polímero



Fonte: Própria

Depois da secagem dos agentes de proteção, em estufa a 37°C pelo tempo determinado de cada grupo, as íris foram submetidas a primeira leitura de cor.

Um padrão de esclera de prótese ocular foi incluído 10 vezes em mufla metálica nº 3 (OGP Produtos Odontológicos Ltda., São Paulo, SP, Brasil) (Figura 33), obtendo-se assim o molde a partir dos quais foram confeccionadas as cinco escleras em cera amarela (Polidental, São Paulo, São Paulo, Brasil) e as cinco em resina acrílica termopolimerizável na cor N1 (Artigos Odontológicos Clássico Ltda. Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) (Figura 34).

Para obtenção das escleras em cera, o gesso das muflas foram hidratados em água e isolados com vaselina. Em seguida, a cera plastificada foi vertida sobre a impressão em negativo das muflas, as mesmas foram fechadas e esperou-se até o resfriamento do material para removê-lo (Figura 35).

Para obtenção das escleras em resina (Figura 36), o gesso recebeu uma camada de isolante para gesso (Cel-Lac, SS White, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil), a resina acrílica termopolimerizável para esclera na cor N1 foi manipulada de acordo com as instruções do fabricante e na fase plástica foi depositada sobre a impressão em negativo das muflas. As mesmas foram fechadas e levadas à prensa hidráulica com 1.100 Kgf, onde permaneceram por 60 minutos (Figura 37). Em seguida, a resina foi polimerizada em panela elétrica polimerizadora (Promeco Indústria Eletro Mecânica LTDA, São Paulo, São Paulo, Brasil) (Figura 38). A mufla foi colocada na panela com a água em temperatura ambiente atingindo 60°C e mantendo essa temperatura por 20 minutos; a temperatura foi elevada até 90°C e então, a panela foi desligada; ao atingir a temperatura de 40°C, a panela foi religada e quando a temperatura atingiu 120°C, a panela foi desligada novamente. As muflas foram mantidas em temperatura ambiente até seu resfriamento para abertura e remoção dos espécimes, os quais

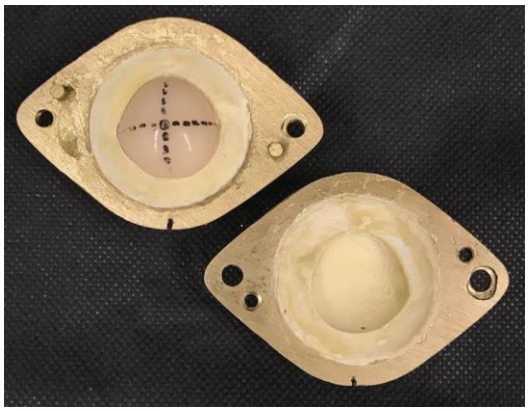
foram desgastados com peça reta (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) e fresas multilaminadas (Maxicut, Malleifer AS, Ballaiguer, Suíça).

As escleras receberam uma demarcação de 11 mm no centro, que foi aberto a partir do centro da íris transferida paras as muflas previamente, para que a íris fosse encaixada (Figuras 39 e 40). Os padrões de esclera em cera tiveram a íris fixadas com cera plastificada, depositada com o auxílio de uma espátula n° 7, no fundo da abertura circular (Figura 41) e os padrões de esclera em resina tiveram as íris fixadas com uma pequena quantidade de resina acrílica autopolimerizável (Figura 41), depositada com o auxílio de uma espátula n° 7, no fundo da abertura circular. Em seguida, o conjunto esclera/íris foram reincluídos, para maior fidelidade do processo (Figuras 42 e 43).

Figura 33 – Modelo de esclera

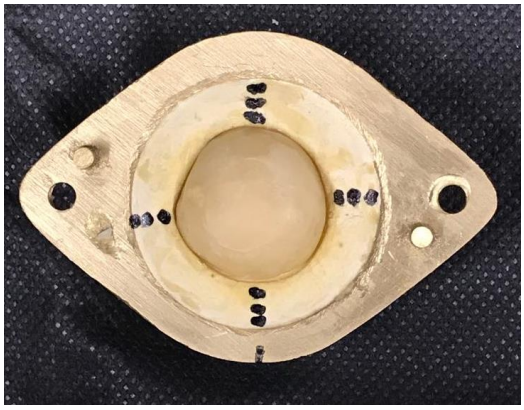
Fonte: Própria

Figura 34 – Modelo de esclera incluído



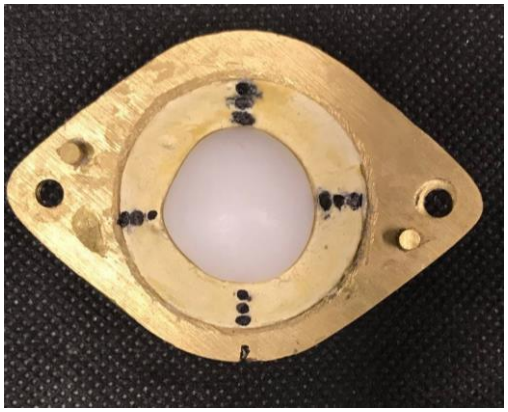
Fonte: Própria

Figura 35 – Padrão de esclera em cera



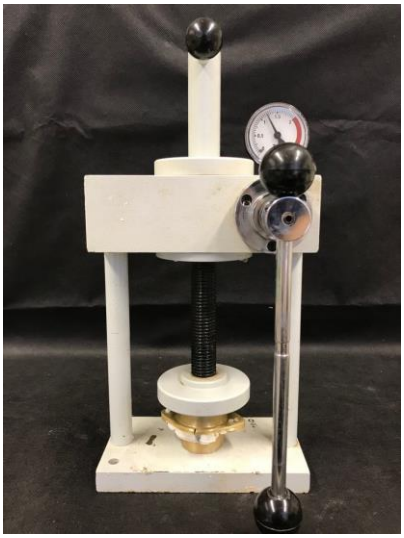
Fonte: Própria

Figura 36 – Padrão de esclera em resina



Fonte: Própria

Figura 37 – Prensa hidráulica

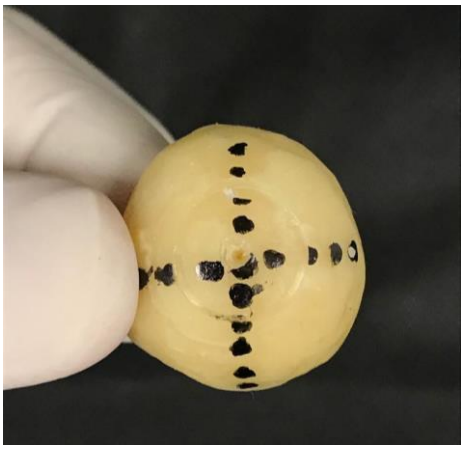


Fonte: Própria

Figura 38 – Panela polimerizadora

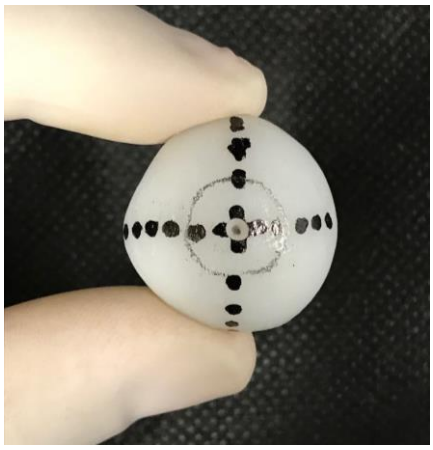
Fonte: Própria

Figura 39 – Padrão em cera com centro demarcado



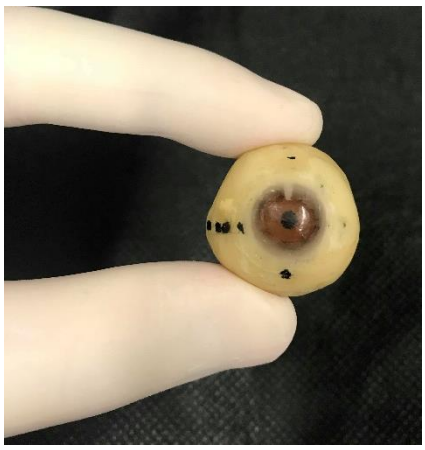
Fonte: Própria

Figura 40 – Padrão em resina com centro demarcado



Fonte: Própria

Figura 41 – Padrão em cera com íris fixada

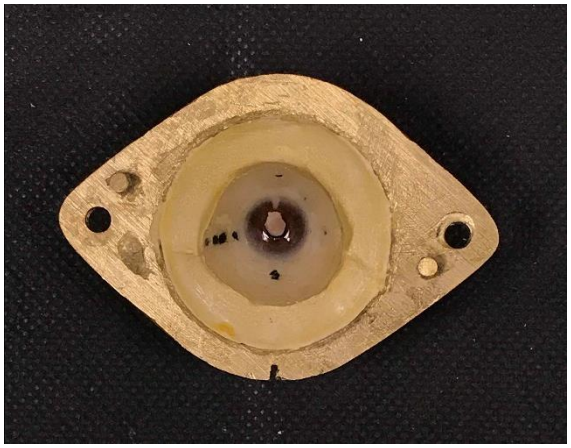


Fonte: Própria

Figura 42 – Padrão em resina com íris fixada

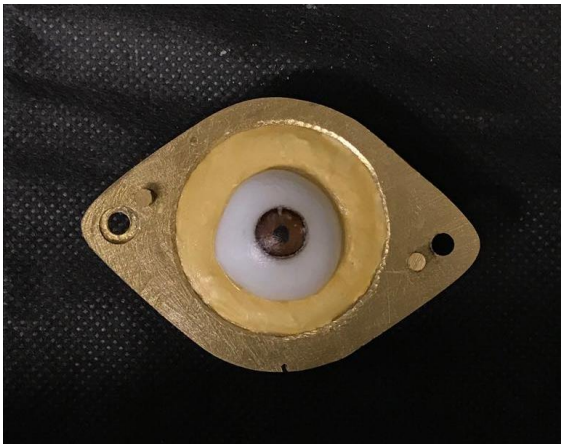
Fonte: Própria

Figura 43 – Padrão em cera reincluído



Fonte: Própria

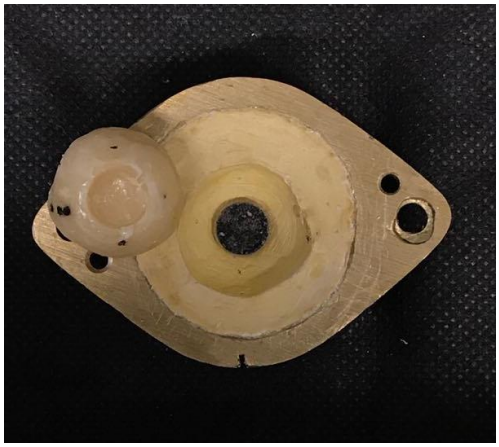
Figura 44 – Padrão em resina reincluído



Fonte: Própria

Após a reinclusão, dos padrões em cera, esta foi removida da mufla com um instrumental e a íris foi mantida em posição (Figura 45). Toda a cera foi removida cuidadosamente para não afetar a íris e obter o molde livre de resíduo de cera. O gesso foi protegido com isolante e a resina acrílica termopolimerizável cor N1 foi prensada (Figura 46).

Figura 45 – Eliminação da cera



Fonte: Própria

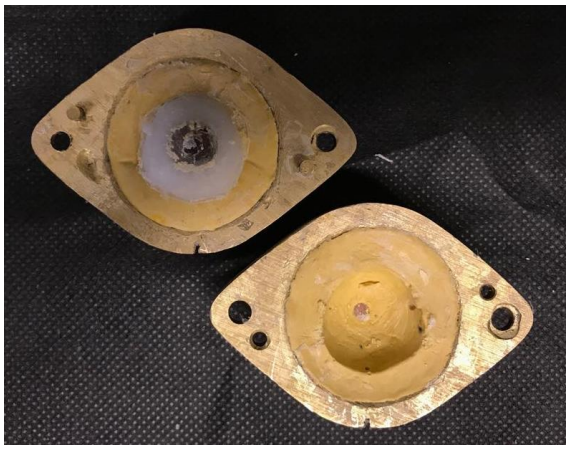
Figura 46 – Resina N1 sendo prensada

Fonte: Própria

As muflas foram levadas a prensa hidráulica por 60 minutos a 1.100 Kgf, e em seguida, foram termopolimerizadas em panela elétrica polimerizadora (Promeco Indústria Eletro Mecânica LTDA, São Paulo, São Paulo, Brasil). A mufla foi colocada na panela com a água em temperatura ambiente atingindo 60°C e mantendo essa temperatura por 20 minutos; a temperatura foi elevada até 90°C e então, a panela foi desligada; ao atingir a temperatura de 40°C, a panela foi religada e quando a temperatura atingiu 120°C, a panela foi desligada

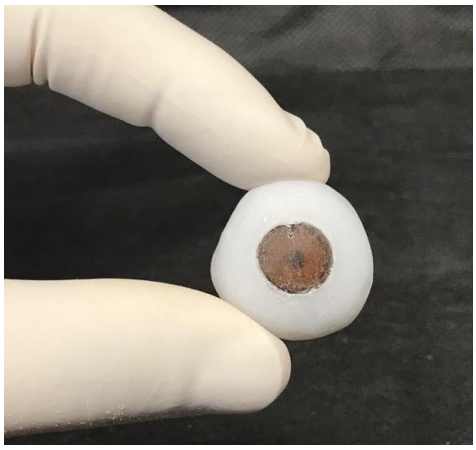
novamente. As muflas foram mantidas em temperatura ambiente até seu resfriamento para abertura e remoção dos espécimes (Figura 47), os quais tiveram suas rebarbas removidas e receberam acabamento com peça reta e fresas multilaminadas (Figura 48). Em seguida, 3 mm da resina escleral foram desgastados para obtenção de espaço para a camada de resina incolor. O desgaste foi padronizado utilizando a ponta da broca n° 703 como guia para a confecção de canaletas na da resina acrílica termopolimerizável N1 (Figura 49), as quais foram unidas, completando o desgaste total da superfície (Figura 50), com auxílio de peça reta (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) e fresas multilaminadas (Maxicut, Malleifer AS, Ballaiguer, Suíça). A borda da íris foi preservada. Em seguida, eles foram reposicionados na mufla e a resina acrílica termopolimerizável incolor foi prensada sobre o conjunto. As muflas foram levadas a prensa hidráulica por 60 minutos a 1.100 Kgf, e em seguida, foram termopolimerizadas em panela elétrica polimerizadora seguindo o mesmo ciclo acima citado.

Figura 47 – Resina N1 polimerizada



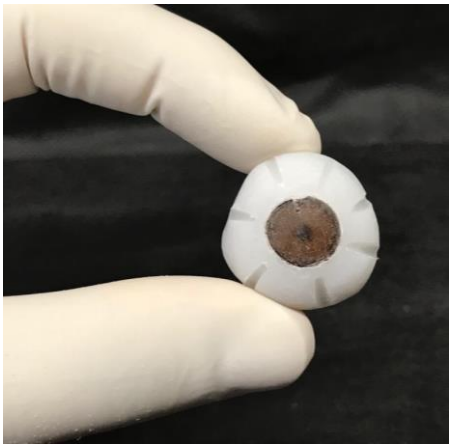
Fonte: Própria

Figura 48 – Conjunto após acabamento



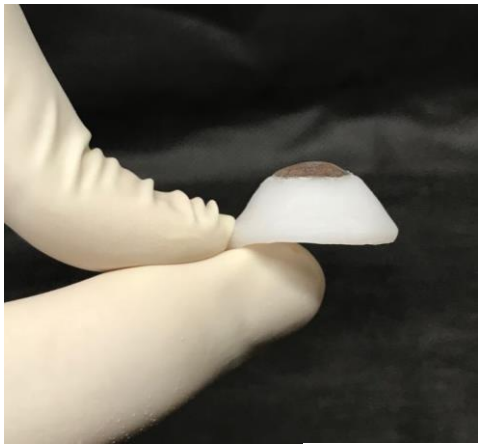
Fonte: Própria

Figura 49 – Desgaste em canaletas do padrão em resina



Fonte: Própria

Figura 50 – Desgaste completo do padrão em resina



Fonte: Própria

Após a polimerização da resina acrílica incolor, as próteses oculares foram retiradas das muflas (Figura 51), as rebarbas foram desgastadas com peça reta (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) e fresas multilaminadas (Maxicut, Malleifer AS, Ballaiguer, Suíça) (Figura 52). Em seguida foram polidas com tira de lixa d'água de granulação 220 (Norton, Norton Saint-Gobain, Guarulhos, Brasil) em peça reta (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) (Figura 53) e com discos de feltro, pedra pomes e branco de Espanha em politriz (Nova OGP Indústria e Comércio Eireli, Curitibanos, São Paulo, Brasil) (Figuras 54 a 56).

Figura 51 – Conjunto com resina incolor polimerizada

Fonte: Própria

Figura 52 – Acabamento da Prótese Ocular com peça reta

Fonte: Própria

Figura 53 – Acabamento da Prótese Ocular com tira de lixa

Fonte: Própria

Figura 54 – Polimento da Prótese Ocular com pedra pomes

Fonte: Própria

Figura 55 – Polimento da Prótese Ocular com disco de feltro

Fonte: Própria

Figura 56 – Polimento da Prótese Ocular com branco de espanha

Fonte: Própria

Figura 57 – Prótese Ocular finalizada

Fonte: Própria

Imediatamente após a confecção das próteses, foram realizadas as mensurações de cor e as próteses foram armazenadas em um recipiente fechado com água em estufa (De Leo & Cia Ltda, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) a 37ºC e novas leituras de cor foram realizadas após 14 dias e 28 dias. No momento de cada leitura de cor, as características e mudanças visuais de cada prótese foram anotadas pelo pesquisador.

4.4.2 Análise da alteração de cor:

A mensuração da cor foi realizada com o aparelho Easy Shade (VITA, Bad Säckingen, Alemanha), em câmara de luz (Macbeth Spectra Light, Nova York, EUA) com iluminação D65 (1- Iluminação natural, faixa de comprimento de onda ~ 380 a 780 nm – Gretagmacbeth, 6500,

F20T12 / 65, 20W, EUA; 2- Iluminação ultravioleta, faixa de comprimento de onda ~ 340 a 400 nm – UV-A Sylvania, Blacklight Azul, F30T8 / BLB, 30W, EUA) que simula a luz do dia (Figura 58). Para o controle da leitura, foi confeccionada uma matriz de duas partes, uma para conter o padrão de esclera; outra que era encaixada sobre o conjunto matriz/esclera e continha uma abertura, para que apenas a luz do aparelho incidisse na íris (Figuras 59 e 60). A ponta ativa do aparelho foi posicionada em 45° com a superfície da íris, e foram realizadas 5 leituras por espécime, sendo quatro quadrantes e uma central (Figuras 61 a 65).

Figura 58 – Cabine de luz com o aparelho Easy Shade e a matriz

Fonte: Própria

Figura 59 – Matriz em silicone e em resina acrílica

Fonte: Própria

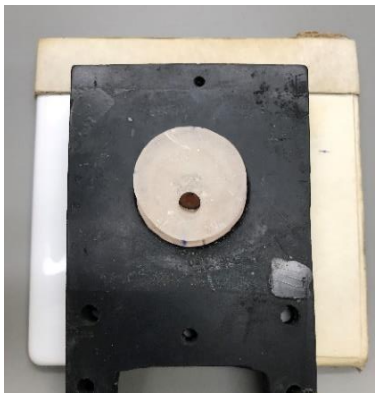
Figura 60 – Matriz com conjunto em posição

Fonte: Própria

Figura 61 – Primeira posição para leitura de cor

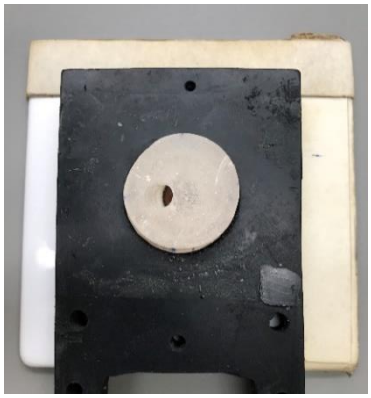
Fonte: Própria

Figura 62 – Segunda posição para leitura de cor



Fonte: Própria

Figura 63 – Terceira posição para leitura de cor



Fonte: Própria

Figura 64 – Quarta posição para leitura de cor

Fonte: Própria

Figura 65 – Posição central para leitura de cor

Fonte: Própria

As alterações de cor foram calculadas através do Sistema CIE Lab (L*, a* e b*), onde o eixo “L” representa a luminosidade e se estende de 0 (preto) a 100 (branco perfeito); o eixo “a” representa a quantidade de vermelho (valores positivos) e de verde (valores negativos); o eixo “b” representa a quantidade de amarelo (valores positivos) e de azul (valores negativos), permitindo a especificação de cores, em um espaço tridimensional, através do comprimento de onda versus reflexão. O sistema CIE LAB calcula a variação de cor ΔE entre dois pontos através da fórmula:

$$\Delta \boldsymbol{E} = \sqrt{(\boldsymbol{L_1} - \boldsymbol{L_2})^2 + (\boldsymbol{a_1} - \boldsymbol{a_2})^2 + (\boldsymbol{b_1} - \boldsymbol{b_2})^2}$$

Onde: ΔE* = alteração de cor; ΔL* = diferença na luminosidade (L*); Δa* = diferença no eixo a*; Δb* = diferença no eixo b*.

A alteração de cor também foi avaliada pelo sistema National Bureau Standards (NBS), o qual relaciona os valores de alteração de cor (ΔE) obtidos com o uso do espectrocolorímetro/espectrofotômetro para uma situação clínica. Os dados foram convertidos para o sistema NSB por meio da seguinte equação:

$$\text{NBS units} = \Delta E \times 0{,}92$$

O quadro 1 mostra a classificação de alteração de cor de acordo com o valor de Unidades obtido.

Quadro 1 - Classificação de alteração de cor de acordo com sistema NBS

Classificação de diferença de cor	Unidades NBS
Imperceptível	0,0 – 0,5
Leve	0,5 – 1,5
Perceptível	1,5 – 3,0
Significante	3,0 – 6,0
Grande	6,0 – 12,0
Muito grande	> 12,0

A análise visual foi feita com base nas seguintes características e atribuição de escores:

Tabela 1 – Características observadas visualmente e escores atribuídos.

Características visuais	***PRESENTE***	***AUSENTE***
Alteração da cor (tonalidade/ brilho)		
Espelhamento		
Pintura Borrada	Escore: 1	Escore: 0
Mancha Verde		
Halo Esverdeado		

4.5 Análise dos dados:

Uma vez verificada a distribuição dos dados quanto à curva Norml (Teste de Shapiro-Wilk), eles foram analisados com o auxílio dos seguintes testes estatísticos:

1. Porosidade: Distribuição não normal; Teste de Kruskal Wallis e pós-teste de Dun;
2. Rugosidade: Distribuição normal; Anova One-Way e pós-teste de Tukey;
3. Dureza: Distribuição normal; Anova One-Way e pós-teste de Tukey;
4. Viabilidade Celular: análise descritiva com apresentação dos resultados em gráficos;
5. Alteração de cor: Distribuição normal; Anova medidas repetidas e pós-teste de Tukey.

As análises foram conduzidas com auxílio do software estatístico SPSS 21.0 (IBM Corp. Released 2012, IBM **SPSS** Statistics for Windows, Version **21.0** - Armonk, NY, IBM Corp). Todos os testes foram realizados com um nível de confiança de 95%.

5. Resultados

Parte 1: Efeito de diferentes técnicas de caracterização da prótese ocular sobre a porosidade, rugosidade e dureza da resina acrílica e viabilidade celular de fibroblastos.

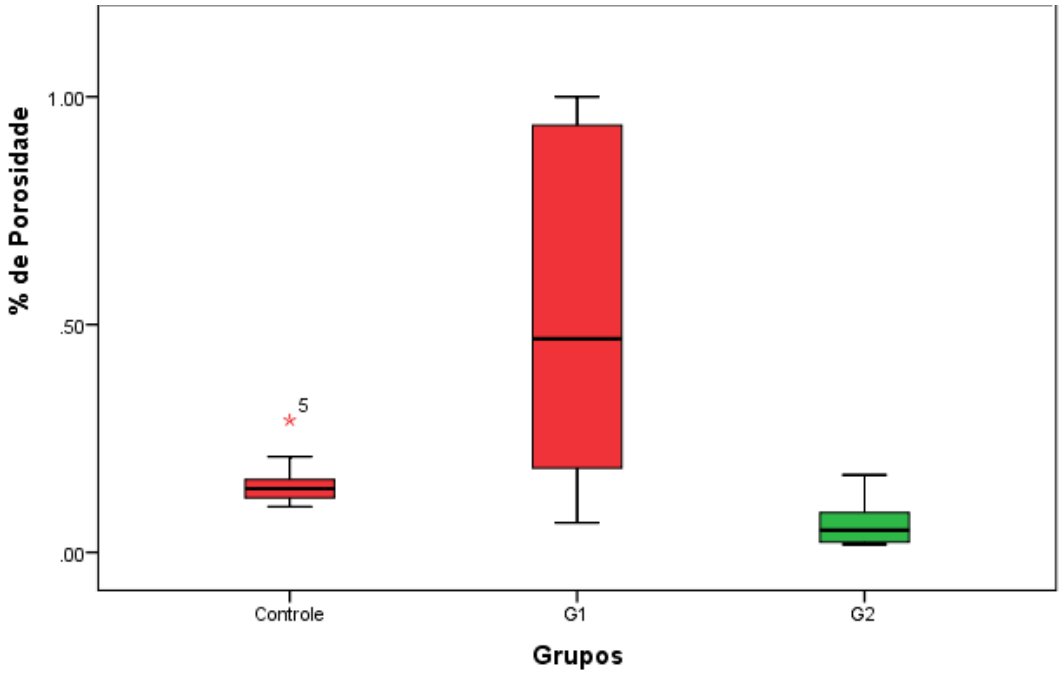
5.1 Porosidade:

A Tabela 2 apresenta a porcentagem de porosidade encontrada nos grupos controle (GC) e grupos de caracterização direta (G1) e indireta (G2) bem como a estatística descritiva e a comparação estatística dos resultados. O grupo 2 apresentou a menor porcentagem de porosidade, sendo estatisticamente diferente dos demais, os quais foram semelhantes entre si (Teste de Kruskal-Wallis). A Figura 66 representa a porcentagem de porosidade em cada grupo.

Tabela 2 – Porosidade (%) dos corpos de prova dos grupos controle, 1 e 2, estatística descritiva e comparação estatística.

	GC	**G1**	**G2**	**P***
	0,14	0,455	0,02	
	0,21	1	0,0175	
	0,15	2,99	0,03	
	0,1	0,4825	0,0725	
	0,29	0,185	0,0875	
	0,14	0,315	0,17	
	0,12	0,1275	0,0975	
	0,14	0,9375	0,0225	
	0,1	0,615	0,03	
	0,16	0,065	0,0675	
Média	0,155	0,717	0,062	
DP	0,054	0,815	0,046	
Mediana	0,14 **A**	0,46875 **A**	0,04875 **B**	0,00
IC	0,114 - 0,195	0,102 - 1,332	0,026 -0,096	
Mínimo	0,100	0,065	0,018	
Máximo	0,290	2,990	0,170	

Figura 66 – Comparação da % de porosidade entre os grupos. Cores iguais indicam igualdade estatística (p=0,00).



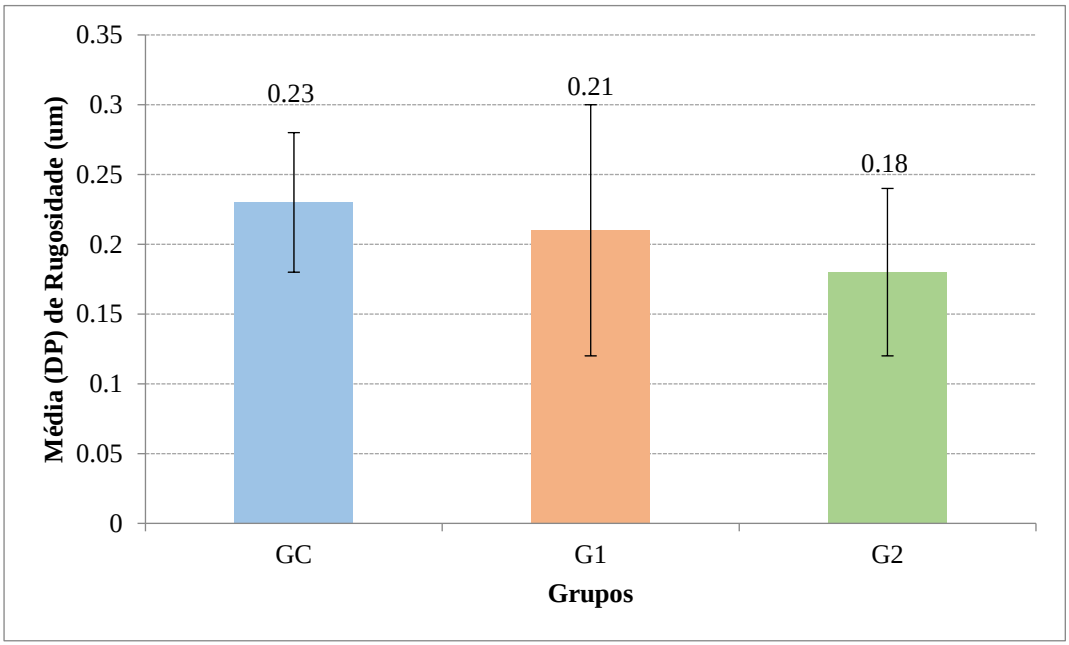
5.2 Rugosidade:

A Tabela 3 indica a rugosidade superficial dos corpos de prova dos grupos controle, grupos 1 e 2 com a estatística descritiva e comparação das médias. O Teste Anova (One-Way) não indicou diferença significante entre os grupos. A figura 67 apresenta a comparação das médias e desvio-padrão (DP).

Tabela 3 – Rugosidade superficial dos corpos de prova nos diferentes grupos, estatística descritiva e comparação das médias.

	GC	**G1**	**G2**	**P**
	0,15	0,33	0,236	
	0,15	0,123	0,193	
	0,24	0,216	0,17	
	0,25	0,103	0,193	
	0,26	0,136	0,16	
	0,2	0,413	0,17	
	0,25	0,186	0,18	
	0,26	0,186	0,136	
	0,28	0,163	0,08	
	0,28	0,233	0,306	
Média	0,23	0,21	0,18	0,303
DP	0,05	0,09	0,06	
Mediana	0,25	0,186	0,175	
IC	0,2-0,27	0,14-0,28	0,14-0,22	
Mínimo	0,15	0,10	0,08	
Máximo	0,28	0,41	0,31	

Figura 67 - Comparação das médias (DP) de rugosidade superficial dos corpos de prova dos grupos estudados (p=0,303).



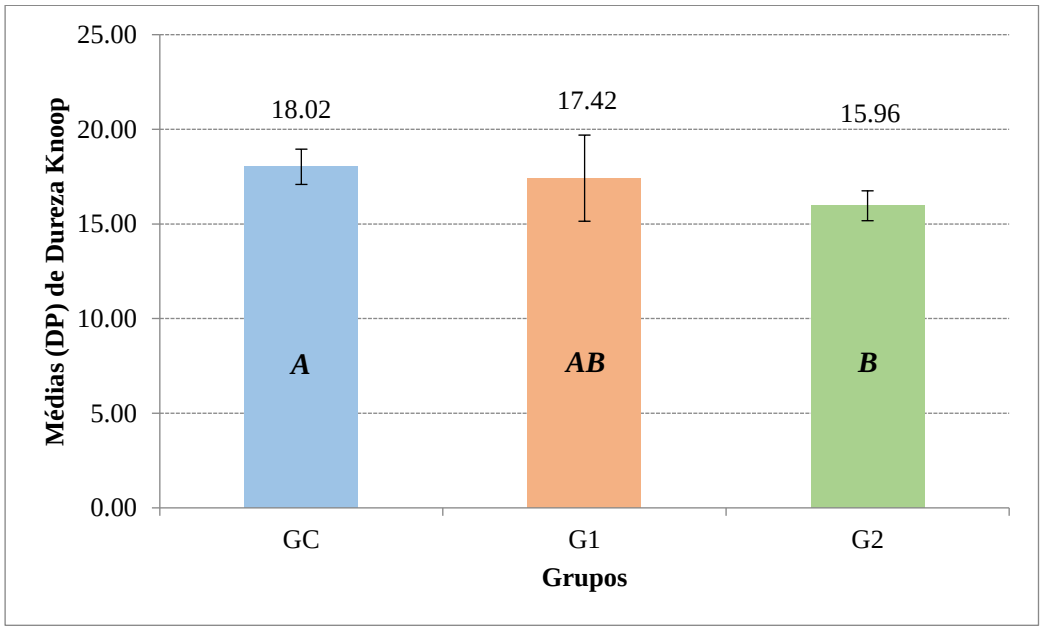
5.3 Dureza:

A Tabela 4 indica a dureza dos corpos de prova dos grupos controle, grupos 1 e 2 com a estatística descritiva e comparação das médias. O Teste Anova (One-Way) indicou diferença significante entre os grupos. A figura 68 apresenta a comparação das médias e desvio-padrão (DP).

Tabela 4 – Dureza dos corpos de prova nos diferentes grupos, estatística descritiva e comparação das médias.

	GC	**G1**	**G2**	**P**
	17,2	16,9	15,2	
	18	16,6	16,6	
	18,4	17	16	
	18,2	23,9	16,5	
	19,8	16,3	15,8	
	18,6	18,1	17,1	
	16,1	16,4	15,2	
	17,8	17,2	16,9	
	17,5	16,7	14,5	
	18,6	15,1	15,8	
Média	18,02 **A**	17,42 **AB**	15,96 **B**	
DP	0,98297	2,39944	0,83160	
Mediana	18,10	16,8	15,9	0,020
IC	17,32-18,7	15,7-19,14	15,4-16,5	
Mínimo	16,10	15,10	14,5	
Máximo	19,80	23,9	17,10	

Figura 68 - Comparação das médias (DP) de dureza dos corpos de prova dos grupos estudados. Letras iguais indicam igualdade estatística (p=0,020).



5.4 Viabilidade Celular:

5.4.1 Fluorescência Direta:

Após 24 horas, não foi possível avaliar a morfologia das células uma vez que não houve proliferação celular em nenhum dos espécimes dos grupos Controle, 1, 2, 3 ou 4, enquanto no controle Termanox (Controle utilizado pelo laboratório), mesmo após 3 dias, foi possível verificar intenso crescimento celular (Figuras 69 e 70).

Figura 69 – Termanox após 3 dias

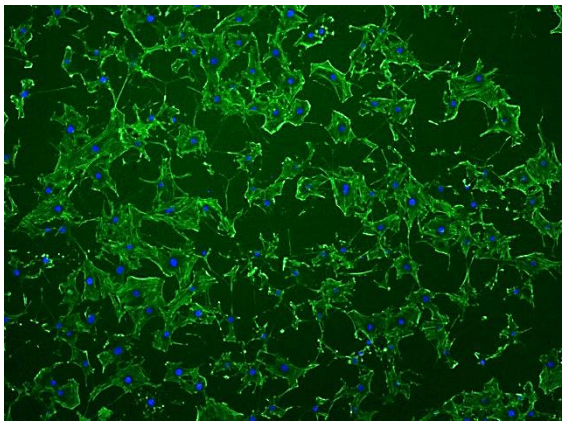
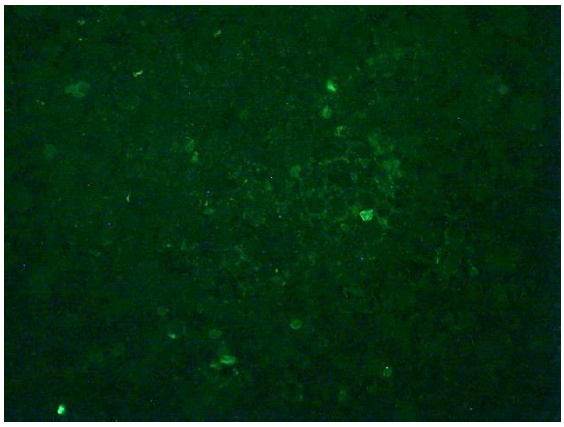


Figura 70 – Grupo Controle após 24 horas



5.4.2 MTT:

O ensaio de MTT foi realizado para a verificação do metabolismo celular, o qual indicou que, independentemente do tempo decorrido, a proliferação celular nos grupos experimentais apresentou-se insuficiente e muito menor quando comparada ao grupo Termanox (controle laboratorial) (Figuras 71 a 73).

Figura 71 – Metabolismo celular após 3 dias

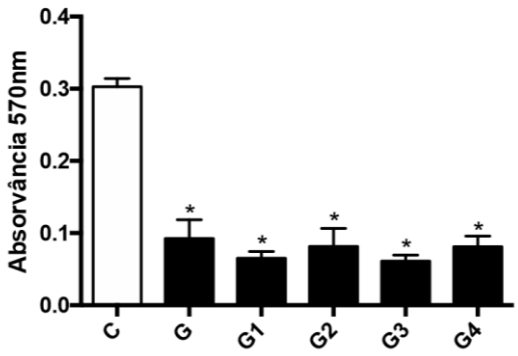


Figura 72 – Metabolismo celular após 7 dias

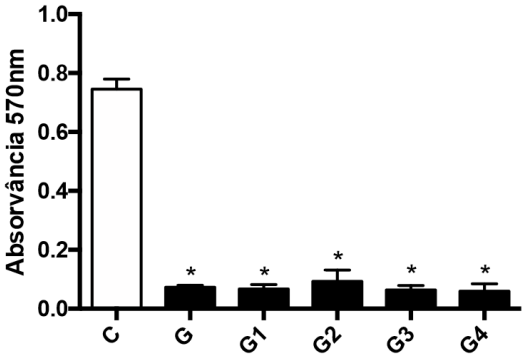
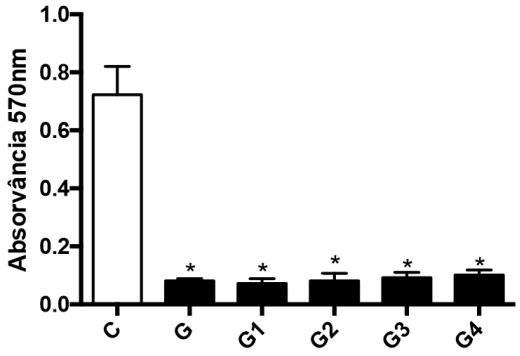


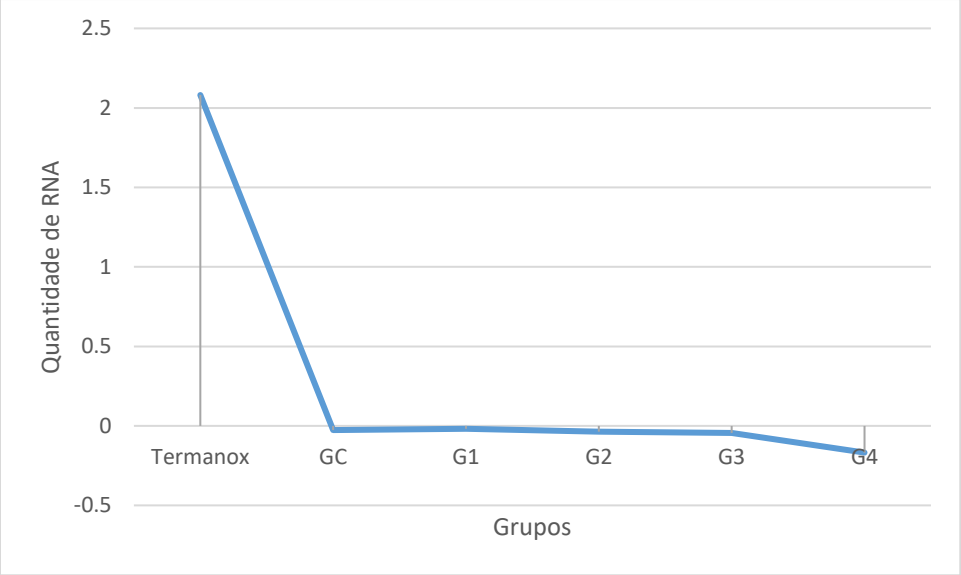
Figura 73 – Metabolismo celular após 10 dias



5.4.3 RT-PCR:

O ensaio de RT-PCR não chegou a ser finalizado, pois na etapa de quantificação do material genético (RNA), excluindo-se o Termanox (controle utilizado pelo laboratório), os grupos controle, 1, 2, 3 e 4 não apresentaram quantidades suficientes, demonstrando que houve intensa morte celular (Figura 74).

Figura 74 – Quantificação de RNA no grupo Termanox e grupos controle e experimentais



Parte 2: Efeito de diferentes tempos de secagem da pintura/agentes de proteção da pintura da íris e substratos de fixação da íris, sobre a alteração de cor da íris.

5.5 Alteração de Cor:

As tabelas 5 a 8 apresentam os resultados de alteração de cor obtidos pelo sistema CIELab e NBS.

A Tabela 5 apresenta a variação de cor dos corpos de prova de todos os grupos (G1 ao G6), substratos (Cera e Resina) após a obtenção da prótese (T1) e após 14 (T2) e 28 (T3) dias de armazenamento em água a 37ºC, bem como as médias e desvio-padrão (DP).

Tabela 5 - Alteração de cor, média e (DP) dos corpos de prova de cada grupo e substratos após a obtenção da prótese (T1) e após 14 (T2) e 28 (T3) dias de armazenamento em água a 37ºC.

Substrato	**Cera**			**Resina**		
Tempo / Grupos	T1	**T2**	**T3**	**T1**	**T2**	**T3**
G1	10,31	11,68	8,97	7,64	8,17	7,41
	17,02	17,17	15,74	9,23	8,63	6,84
	7,88	8,41	9,06	6,82	5,83	10,74
	12,67	13,32	11,08	8,50	8,83	8,45
	12,11	12,71	10,15	7,64	7,92	7,32
Média	12,00	12,66	11,00	7,97	7,87	8,15
DP	3,02	2,82	2,50	0,83	1,07	1,40
G2	10,19	11,57	9,33	8,18	9,28	10,58
	8,16	9,00	8,93	6,61	6,25	7,30
	11,56	13,96	14,08	9,80	8,21	7,08
	13,02	9,62	9,14	8,63	7,07	7,21
	9,98	7,76	9,38	5,33	6,51	7,90
Média	10,58	10,38	10,17	7,71	7,46	8,01
DP	1,82	2,43	2,19	1,76	1,26	1,47
G3	5,93	8,33	12,12	7,19	8,76	8,84
	7,16	5,22	4,99	6,18	9,00	7,00
	11,05	14,55	14,47	10,46	9,87	9,25
	4,42	5,41	7,10	10,46	9,94	9,22
	4,02	7,22	8,83	10,75	10,13	11,04
Média	6,52	8,15	9,50	9,01	9,54	9,07
DP	2,83	3,81	3,81	2,16	0,61	1,44
G4	6,00	7,91	6,21	4,10	3,40	3,85
	11,02	12,42	16,61	4,10	4,25	4,19

	5,34	6,67	7,96	5,12	5,31	6,29
	5,13	10,29	9,85	5,67	6,45	4,40
	5,81	5,00	5,33	6,39	5,37	6,19
Média	6,66	8,46	9,19	5,08	4,96	4,98
DP	2,46	2,93	4,49	1,00	1,17	1,16
G5	11,73	11,39	9,68	10,66	8,41	16,42
	7,20	8,13	9,25	8,75	10,42	13,00
	9,30	10,20	13,42	10,61	8,81	33,90
	10,95	12,38	15,33	11,92	6,48	16,39
	6,70	7,36	8,59	5,96	7,10	7,04
Média	9,18	9,89	11,25	9,58	8,24	17,35
DP	2,22	2,13	2,95	2,32	1,54	10,01
G6	9,03	8,63	8,45	6,78	8,48	8,57
	9,75	7,26	7,90	6,76	11,37	8,90
	5,83	7,79	6,25	6,61	5,85	7,59
	6,68	5,83	5,34	10,00	11,60	9,41
	4,87	7,62	5,85	11,78	13,35	8,68
Média	7,23	7,42	6,76	8,39	10,13	8,63
DP	2,09	1,03	1,35	2,37	2,96	0,67

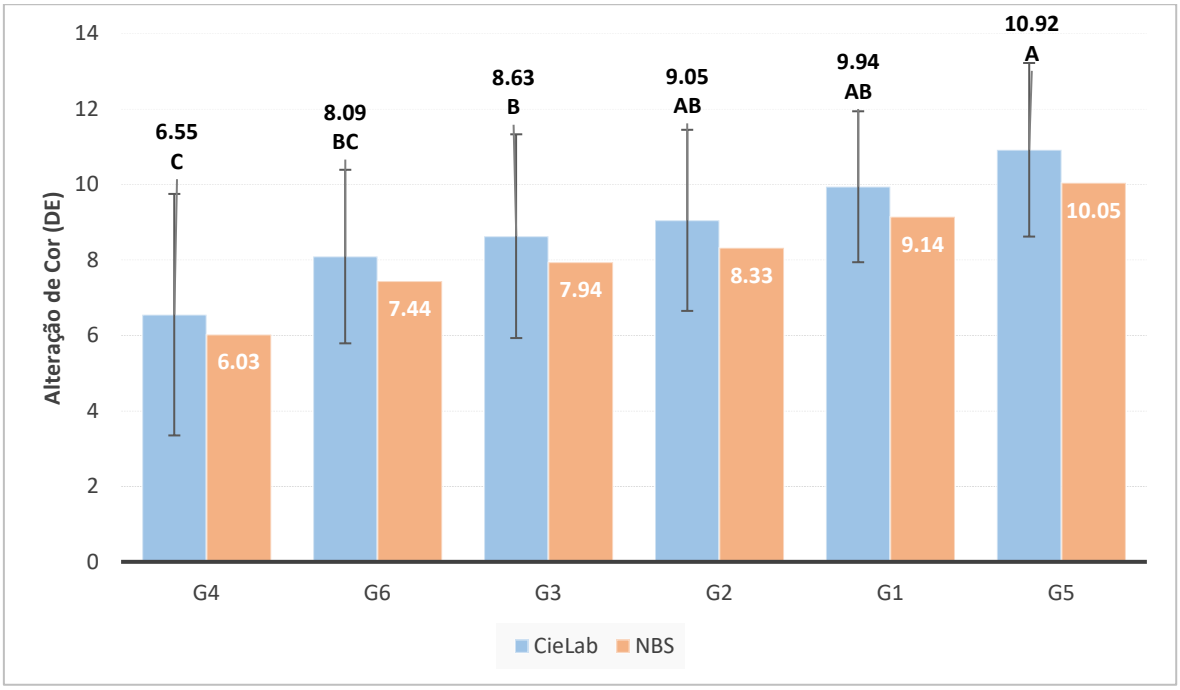
A análise estatística dos dados (Teste Anova medidas repetidas e Teste de Tukey) indicou diferença significante entre os grupos (p=0,000) e interação entre Tempo x Grupo (p=0,036) e Grupo x Substrato (p=0,000) (Tabela 6).

Tabela 6 - Análise estatística da variação de cor dos corpos de prova de cada grupo, substratos e tempos.

Fatores de variação	Soma dos quadr.	GL	Quadr. médios	F	P
Tempo	42,862	2	21,431	2,701	,071
Grupo	341,607	5	68,321	8,611	,000*
Substrato	30,724	1	30,724	3,872	,051
Tempo * Grupo	159,492	10	15,949	2,010	,036*
Tempo * Substrato	10,610	2	5,305	0,669	,514
Grupo * Substrato	264,154	5	52,831	6,659	,000*
Tempo * Grupo * Substrato	98,768	10	9,877	1,245	,268
Erro	1142,521	144	7,934		
Total	16235,977	180			

A figura 75 apresenta a comparação das médias (DP) da alteração de cor entre os grupos pelo sistema CIELab e Sistema NBS. A menor alteração de cor foi observada no grupo G4 e maior no grupo G5. Os demais grupos apresentaram valores intermediários de alteração de cor. Por meio da análise NBS, pode-se verificar que todos os grupos apresentaram alteração de cor considerada "grave".

Figura 75 – Comparação das médias (DP) da alteração de cor nos grupos de G1 a G6 (p=0,000), pelos sistemas CieLab e NBS. Letras iguais indicam igualdade estatística.



A tabela 7 apresenta a comparação das médias (DP) da alteração de cor para a interação entre Tempo de armazenamento x Grupo. A alteração de cor foi tempo dependente apenas para o grupo, onde pode-se verificar maior alteração de cor após 28 dias. Comparando os grupos em cada tempo, verifica-se que houve diferença entre eles imediatamente após a obtenção da prótese (T1) e após 28 dias de armazenamento (T3). Imediatamente após a obtenção da prótese, a maior variação da cor foi observada no grupo G1 e a menor no grupo G4. Os demais apresentaram valores intermediários. Porém, após 28 dias de armazenamento, a maior alteração ocorreu no G5 e os demais grupos foram semelhantes entre si.

Tabela 7 – Comparação das médias (DP) da alteração de cor quando da interação Grupo x Tempo (p=0,036).

		G1	G2	G3	G4	G5	G6
T1	**Média**	9,98	9,15	7,76	5,87	7,81	7,81
	DP	3,15	2,27	2,71	1,96	2,19	2,19
		A	**A**	**AB**	**B**	**ABa**	**AB**
T2	**Média**	10,27	8,92	8,84	6,71	9,07	8,78
	DP	3,38	2,39	2,67	2,80	1,95	2,53
						a	
T3	**Média**	9,57	9,09	9,29	7,09	14,30	7,69
	DP	2,61	2,09	2,73	3,81	7,67	1,41
		A	**A**	**A**	**A**	**Bb**	**A**

* Letras maiúsculas = comparação entre as colunas na mesma linha; * Letras minúsculas = comparação entre as linhas na mesma coluna; Letras iguais indicam igualdade estatística.

A tabela 8 mostra os dados da interação entre Grupo x Substrato. Comparando os grupos em cada substrato, para a cera, o grupo G6 apresentou a menor alteração de cor, enquanto o grupo G1 apresentou a maior alteração de cor. Os demais grupos apresentaram valores intermediários. Para o substrato resina, a menor alteração de cor foi observada no grupo G4 e maior no grupo G5.

Analisando a influência do substrato na alteração de cor em cada grupo, a comparação das médias indicou maior alteração de cor quando foi utilizada cera nos grupos G1, G2 e G4. Para os grupos G3 e G5, o substrato não influenciou a variação de cor da íris.

Tabela 8 - Comparação das médias (DP) da alteração de cor quando da interação Grupo x Substrato (p=0,000).

		G1	G2	G3	G4	G5	G6
Cera	**Média**	11,88	10,38	8,06	8,10	10,11	7,14
	DP	2,97	2,01	3,49	3,34	2,45	1,47
		Aa	**ABa**	**BC**	**BCa**	**B**	**C**
Resina	**Média**	8,00	7,73	9,21	5,00	11,72	9,05
	DP	1,17	1,42	1,44	1,03	6,94	2,21
		Bb	**BCb**	**AB**	**Cb**	**A**	**AB**

* Letras maiúsculas = comparação entre as colunas na mesma linha; * Letras minúsculas = comparação entre as linhas na mesma coluna; Letras iguais indicam igualdade estatística.

Características visuais de alteração de cor:

A tabela 9 apresenta a porcentagem do número médio de corpos de prova que apresentaram alteração visuais na cor da esclera, sendo elas de tom, espelhamento, pintura borrada e manchamento ao longo do tempo de armazenamento em cada grupo para a cera e resina.

Tabela 9 – Porcentagem do número médio de corpos de prova que apresentaram alterações visuais em cada grupo, tempo e substrato, e média das alterações encontradas.

		G1		G2		G3		G4		G5		G6		Média (%)
		Cera	Resina	Cera	Resina	Cera	Resina	Cera	Resina	Cera	Resina	Cera	Resina	
T1	**AC**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ES	80	0	100	0	100	80	100	100	0	80	100	100	70
	PB	40	0	40	0	0	80	0	0	100	0	0	0	22
	MV	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	8
	HE	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	8
Média (%)		24	0	28	0	40	32	20	20	40	16	20	20	
T2	**AC**	0	60	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	13
	ES	40	40	100	20	100	100	100	100	80	80	100	100	80
	PB	40	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	100	15
	MV	0	0	0	0	100	0	0	0	80	0	0	0	15
	HE	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	2
Média (%)		16	20	28	4	40	40	20	20	36	16	20	40	
T3	**AC**	0	80	100	100	0	100	0	0	0	0	0	0	32
	ES	20	40	60	20	100	40	0	0	100	80	100	100	55
	PB	40	0	40	0	0	0	0	0	100	0	60	0	20
	MV	0	0	0	0	100	0	0	0	40	0	0	0	12
	HE	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	8
Média (%)		12	24	40	24	40	28	0	0	68	16	32	20	
Média nos substratos		17	15	32	14	40	33	20	20	48	16	24	27	
Média nos grupos		16		23		36,5		20		32		25,5		

* AC = Alteração da cor (tonalidade/brilho); ES = Espelhamento; PB = Pintura Borrada; MV = Mancha Verde; HE = Halo Esverdeado

Ao longo do tempo, verifica-se que houve alterações visuais na pintura em todos os grupos, sendo que os grupo G1 (16%) e G5 (20%) apresentaram a menor quantidade de corpos de prova com alterações visuais, independente do substrato. Os demais apresentaram mais de 20% dos espécimes com alteração ao longo do tempo. A alteração mais frequente foi o espelhamento nos três tempos, sendo que houve uma redução da porcentagem de corpos de prova que apresentaram esta falha após 28 dias de armazenamento (T3=55%). A alteração de

tom ocorreu de forma progressiva após 14 e 28 dias. Após o processamento, 8% dos espécimes apresentaram alteração da cor da tinta, com manchamento verde no centro e esta característica apareceu em outros espécimes ao longo do tempo.

A tabela 10 apresenta a soma dos escores de alterações visuais atribuídos a cada corpo de prova nos diferentes grupos, substratos e tempo imediatamente após o processamento da prótese (T1) e após 14 (T2) e 28 (T3) dias de imersão, bem como a média dos escores dos corpos de prova em cada tempo. Verifica-se que ao longo do tempo, os corpos de prova apresentaram variação no número de alterações visuais. Por exemplo, no grupo G1/cera, os corpos de prova (GP) 1 e 2 apresentaram duas das alterações em T2 e uma alteração em T3 e T4, indicando que houve uma delas desapareceu. Entretanto no grupo G1/resina, nenhum corpo de prova apresentou alteração em T2, mas passaram a apresentar alteração em T3 e T4. Fazendo esta análise, nota-se que nos grupos G2, G3, G4 e G5 incluídos em cera, as variações foram maiores se comparadas com a resina.

Tabela 10 - Soma dos escores de alterações visuais atribuídos a cada corpo de prova nos diferentes grupos, substratos e tempo.

		Cera					**Resina**				
		CP1	**CP2**	**CP3**	**CP4**	**CP5**	**CP6**	**CP7**	**CP8**	**CP9**	**CP10**
G1	**T1**	2	2	0	1	1	0	0	0	0	0
	T2	1	1	0	1	1	1	1	0	1	2
	T3	1	1	0	1	1	1	1	0	1	2
G2	**T1**	1	1	2	2	1	0	0	0	0	0
	T2	1	1	2	2	1	0	1	0	0	0
	T3	2	1	3	3	1	1	2	1	1	0
G3	**T1**	2	2	2	2	2	1	1	0	2	0
	T2	1	1	2	2	1	0	1	0	0	0
	T3	2	1	3	3	1	1	2	1	1	0
G4	**T1**	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0
	T2	3	3	3	3	2	2	1	2	2	0
	T3	0	0	0	0	0	2	1	2	2	0
G5	**T1**	2	2	2	2	2	1	1	0	1	0
	T2	2	2	2	2	2	1	1	0	1	0
	T3	3	4	3	3	4	1	1	1	0	0
G6	**T1**	3	4	3	3	4	1	1	1	0	0
	T2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0
	T3	2	1	2	1	2	1	1	1	1	0

*****CP = corpo de prova

6. Discussão

O presente trabalho é composto por duas partes, tendo a primeira o objetivo de avaliar a influência do método de caracterização da esclera da prótese ocular sobre propriedades físico-mecânicas da resina acrílica e sua toxicidade sobre células conjuntivas, e a segunda, avaliar a influência do tempo de secagem/proteção da tinta, substrato de inclusão da íris e tempo de armazenamento sobre a alteração de cor da íris para prótese ocular.

A literatura atual é escassa no que se refere a estudos sobre as propriedades de resinas acrílicas para prótese ocular (Gonçalves et al., 2001; Goiato et al., 2004; Goiato et al., 2007; Fernandes, Goiato, dos Santos, 2009; Artopoulou, Chambers, Eliades, 2016; dos Santos et al., 2016). Porém, já é sedimentado que há uma relação entre o método de polimerização, a pressão utilizada, assim como a temperatura máxima atingida durante o ciclo e o meio de polimerização, sobre as propriedades físicas e mecânicas do material, o que pode acarretar prejuízos na qualidade, durabilidade e função do mesmo (Phillips, 1996; Lee Lai, Hsu, 2002).

Devido a importância do controle das propriedades e citotoxicidade do material em níveis clinicamente aceitáveis para garantir a maior durabilidade da prótese, e ainda da sua menor contaminação e menor risco de lesões teciduais, foram avaliadas variáveis de resposta físico-mecânicas e estéticas, empregando-se diferentes técnicas de caracterização da esclera e confecção da íris.

Como forma de facilitar e otimizar a discussão do trabalho, esta foi dividida em duas partes.

Parte 1 – Influência das técnicas de caracterização na porosidade, rugosidade, dureza e viabilidade celular.

Os efeitos das técnicas de confecção nos materiais utilizados para a obtenção de uma prótese ocular ainda não foram amplamente estudados. Existem estudos e relatos antigos sobre as etapas para a produção de uma prótese ocular (Rode, Rode, 1980; Oliveira, 1982; Rezende, 1986; Shifman et al. 1993), seu histórico (Kelley, 1971; Fonseca et al., 1973; Cain, 1982; Fonseca, Rosé, 1987; Tokenlaar et al., 1991; Varella, Oliveira, 1994; Perrone et al., 1996), porém, estudos direcionados e aprofundados aos efeitos das técnicas e materiais na estabilidade e durabilidade do aparelho protético e na resposta dos tecidos começaram a ser desenvolvidos mais recentemente (Gonçalves et al. 2001; Goiato et al. 2004; Fernandes, Goiato, dos Santos, 2007; Goiato et al. 2007; Pereira, 2007; Reis, Dias, Carvalho, 2008; Borra et al., 2009; Fernandes et al., 2009; Goiato et al. 2010a; Goiato et al. 2010b; Canadas et al. 2010; Goiato et al. 2011a; Goiato et al. 2011b; Mundim et al. 2012; Bannwart et al. 2013; Reis, Dias, 2013;

Andreotti et al. 2014; Moreno et al. 2015; Medeiros et al. 2015; Silva et al. 2016a; Silva et al. 2016b; Alfenas et al., 2018).

A literatura indica a avaliação da porosidade pelo método de injeção de mercúrio, proposto por Washburn (1921) e que passou a ser efetivamente utilizada por Henderson et al. a partir de 1940. A técnica preconiza a injeção de certo volume de mercúrio sob pressão controlada no material poroso, sendo possível registrar uma curva porosimétrica através desses dados. Esse método é um dos mais tradicionais para a determinação da quantidade, distribuição e tamanho dos poros, sendo aplicado em diversas áreas de pesquisa por ser um método que permite a obtenção rápida dos resultados através de uma curva contínua dos dados (Washburn, 1921; Zou, Malzbender, 2016). Outro método encontrado na literatura para mensurar a porosidade do material é o método de contagem dos poros com o auxílio de lupa estereoscópica após a coloração dos mesmos com tinta Nanquin da Índia em uma área previamente delimitada (Nowlin et al. 1991; Borges, 1998; Tanji, 2000). No presente estudo a porosidade foi mensurada em microscópio invertido com aumento de 200x e calculda por meio do software NIS Elements Basic Research (Dias et al., 2013). Buscou-se mensurar a maior área possível dos espécimes visando obter a fidelidade e realidade apresentada pelos mesmos. Esta metodologia foi empregada porque apresenta bons resultados, é de baixo custo e não destrutiva, permitindo assim, a utilização dos mesmos corpos de prova nos demais ensaios.

Para os resultados de porosidade, a hipótese nula de que as diferentes técnicas de caracterização da prótese ocular em resina acrílica não produziriam efeitos negativos sobre a porosidade, foi rejeitada. O grupo da caracterização direta apresentou média de porosidade semelhantes à resina acrílica sem caracterização (controle), com maior quantidade de poros quando comparados à caracterização indireta. Este resultado sugere que a alteração da proporção polímero/monômero necessária para a aplicação das técnicas de caracterização empregadas pode ter influenciado. A porosidade da resina acrílica é uma falha já descrita na literatura e pode ocorrer durante o processamento do material. Os principais fatores causais da porosidade são expansão e contração térmica da resina acrílica, expansão e contração térmica do gesso, proporção de polímero e monômero, pressão utilizada durante a prensagem, absorção ou perda de água, tamanho e espessura da prótese, tipo e ciclo de polimerização (Phillips, 1996; Lee Lai, Hsu, 2002). Portanto, para que essa falha seja minimizada, deve-se prioritariamente seguir todas as recomendações dos fabricantes dos materiais utilizados. A confecção dos corpos de prova seguiu as recomendações do fabricante da esclera N1 quanto à proporção entre polímero e monômero para os três grupos (controle, caracterização direta e caracterização indireta), havendo diferença entre eles, somente no que diz respeito à técnica de caracterização.

Na técnica de caracterização indireta, o pigmento acrílico vermelho (polímero) foi adicionado na mufla, sem acréscimo de monômero, de forma que o pigmento se incorporasse à massa de resina N1 durante a prensagem e polimerização. Já para a técnica de caracterização direta, o pigmento foi adicionado juntamente com o monopólio e isso pode ter resultado em maior quantidade de monômero residual, considerado um dos fatores que afetam a formação de poros. Todos os espécimes receberam uma camada de resina incolor e nova polimerização, mas isso não foi eficiente na prevenção da formação de porosidade.

Estes resultados são importantes por apresentarem uma análise ainda não descrita na literatura, ou seja, a relação da caracterização com a porosidade da resina para prótese ocular. Os estudos encontrados estudaram a relação entre porosidade e material de inclusão (dois tipos de silicone) da resina acrílica quando polimerizada por micro-ondas e o efeito de diferentes fontes de calor para polimerização da resina associadas ao envelhecimento acelerado (Goiato et al., 2004; Canadas et al., 2010). Em ambos os estudos foi verificada a presença da porosidade.

O controle da porosidade é importante porque quando em contato com um meio aquoso, a resina acrílica absorve líquido em quantidade proporcional à quantidade de poros existente no material após seu processamento. Este líquido irá ocupar os espaços vazios no polímero expandindo o seu volume final (Wolfaardt et al. 1986; Monsenego et al. 1989; Phillips, 1996). Como consequências, a porosidade afeta diferentes propriedades do material, dentre as quais podem ser citadas a rugosidade e dureza (Sweeney et al. 1972; Quirynen et al. 1990; Moura et al. 2006). Assim, as propriedades de rugosidade de superfície e dureza também foram avaliadas em função das técnicas de caracterização.

A rugosidade de superfície pode ser mensurada para avaliar a qualidade e o desempenho clínico de um material usado na confecção de próteses, uma vez que, em níveis aumentados irá interferir na estética devido a possibilidade de manchamento, bem como o desenvolvimento de biofilmes bacterianos (Bollen, Lambrechts, Quirynen, 1997; Hanning, 1999; Kuhar, Funduk, 2005). Ela pode ser afetada pela homogeneidade inadequada da mistura de polímero e monômero, pelo excesso de monômero residual e por pressão inadequada sobre o material durante o processamento (Phillips, 1996). Uma superfície é composta por três componentes: forma, ondulação e rugosidade. A forma é o componente mais fácil de observar e consiste basicamente no formato do objeto (plano, cilíndrico e etc.). Observando-o de maneira mais próxima, percebe-se que sua superfície apresenta várias ondulações, e essas são formadas por componentes menores, os vales e picos, que juntos constituem a chamada rugosidade (Josso, Burton, Lalor, 2002).

A hipótese nula para essa variável, de que as diferentes técnicas de caracterização da prótese ocular em resina acrílica não produziriam efeitos sobre a rugosidade, foi aceita. Os resultados demonstraram que não houve diferença significante entre os grupos, ou seja, as caracterizações direta e indireta não influenciaram a rugosidade do material, estando dentro de uma faixa clinicamente aceitável, visto que a mediana ficou abaixo de 0,2µm para os grupos experimentais. A literatura indica que o limite máximo de rugosidade clinicamente aceitável é de Ra=0,2µm (Heath, Wilson 1976; Loney et al., 1994). Superfícies com rugosidade acima desse valor favorecem o aumento da adesão bacteriana e formação de biofilme quando comparadas às superfícies lisas. Além disso, proporcionam proteção ao biofilme contra as atividades de limpeza (Kuhar, Funduk, 2005), favorecendo sua maturação e aumento de risco de infecções e lesões teciduais para o paciente. Quando relacionados à porosidade, estes resultados não seguiram o mesmo padrão, ou seja, maior rugosidade no grupo experimental que apresentou maior porosidade. O polimento realizado na superfície poderia justificar este efeito, porém, um acompanhamento ao longo do tempo é importante para confirmar os resultados encontrados, uma vez que a literatura indica que a rugosidade pode ser influenciada pelo envelhecimento (Goiato et al., 2007, Canadas et al., 2010; Nagay et al., 2015).

A micro-dureza Knoop é a resistência de um material rígido à penetração de um diamante em sua superfície. É uma propriedade relevante da resina acrílica, pois está relacionada às forças de deformação plástica, ao desgaste, deterioração e capacidade de polimento ao longo do tempo (Phillips, 1996). Clinicamente, representa sua capacidade de resistir a abrasões e desgastes durante o tempo de uso. Essa propriedade é determinada pelo teste padronizado de micro-dureza Knoop, desenvolvido pelo físico e engenheiro americano Frederick Knopp no National Bureau of Standards (atualmente NIST) e normatizado pela ASTM D1474 (Standard Test Methods for Indentation Hardness of Organic Coatings). O teste é realizado em uma escala microscópica para leitura de pequenas áreas com instrumentos de alta precisão, e promove a penetração de uma ponta de diamante, com formato piramidal romboédrico sob carga específica contra a superfície polida do corpo de prova. A ponta gera uma marcação de formato rômbico na superfície do espécime, e o comprimento da maior diagonal é utilizado na mensuração do valor numérico da propriedade (Whitman et al., 1987; Suzuki, 2004; Anusavice, Shen, Rawis, 2012).

A hipótese nula apresentada para essa variável foi rejeitada. Os resultados demonstraram que para o ensaio de dureza, houve diferença significante entre os grupos. O grupo sem caracterização (controle) apresentou maior valor de dureza seguido do grupo com caracterização direta. O menor valor de dureza foi verificado no grupo de caracterização

indireta. Embora esta propriedade tenha sido afetada nos grupos caracterizados, os valores encontram-se dentro parâmetros clinicamente aceitáveis para o material. A especificação n ° 33 do American National Standards Institute (ANSI) / American Dental Association (2003) estabelece que a dureza dos dentes artificias de resina acrílica não deve ser inferior a 15. Não foi encontrado, na literatura, um valor crítico para a resina de prótese ocular, mas considerando que os dentes artificias estão expostos à carga mastigatória e à abrasão causada pela escovação, estes valores foram considerados como base de referência para a prótese ocular no presente estudo, visto que este dispositivo não é exposto a estas condições. Não foram encontrados estudos semelhantes ao apresentado, no qual a dureza foi avaliada após a realização da caracterização empregada no processo de confecção da prótese ocular. Os estudos encontrados que avaliaram a dureza de materiais para prótese ocular tiveram como fatores de variação a adição de nanopartículas e envelhecimento acelerado (Gonçalves et al. 2001; Andreotti et al. 2014).

Com relação à análise do efeito das técnicas de caracterização sobre a viabilidade celular de uma linhagem de fibroblastos, esta foi realizada por meio dos ensaios de Fluorescência direta, MTT e RT-PCR. Estes ensaios são muitos utilizados para identificar os efeitos das técnicas, procedimentos e materiais na proliferação celular assim como possíveis efeitos citotóxicos levando a produção de fatores de inflamação, reparo tecidual ou morte celular. Portanto, a resposta de viabilidade celular em uma cultura deve ser identificada pela capacidade do conjunto expressar certo grau de crescimento, reprodução, metabolismo, adaptação e resposta celular (Ambrose, 2016).

O cultivo celular começou a ser estudado por Harrison, em 1907 e Carrel, em 1912. A técnica foi desenvolvida com o princípio de estudar as células em ambiente controlado e fora do organismo, para compreender o comportamento celular. Entretanto, a proliferação in vitro apresenta limitações relacionadas ao meio nutricional e hormonal, que não são idênticos aos do organismo vivo. Além disso, características fisiológicas do desenvolvimento celular como adesão celular, arquitetura tridimensional e heterogeneidade, são afetadas (Hayflick, 1965; Freshney, 2006). Entretanto, mesmo com suas limitações, o comportamento celular observado nos ensaios in vitro podem ter seus resultados extrapolados e relacionados aos sinais clínicos como o aumento da secreção após instalação da prótese, lacrimejamento e a irritação tecidual com coceira e vermelhidão local. Os resultados do presente estudo indicaram que todos os grupos interferiram negativamente na viabilidade celular, rejeitando assim, a hipótese nula. Para o ensaio de Fluorescência direta, não foi possível avaliar a morfologia celular após 24 horas do contato direto dos corpos de prova com as células uma vez que não houve proliferação

celular em nenhum dos grupos. Para o ensaio de MTT, realizado para a verificação do metabolismo celular, independentemente do tempo decorrido, a proliferação celular também foi insuficiente e muito menor quando comparada ao grupo Termanox. Com relação ao ensaio de RT-PCR, não foi possível realizar a quantificação do material genético (RNA), devido a quantidade insuficiente de material. Provavelmente, os resultados encontrados podem ser explicados pela presença do monômero residual. No trabalho de Yunus et al. (1994), foi mensurado monômero residual nos espécimes com tempos de 20 minutos, 1 hora, 1 semana e 1 mês após a polimerização do material e os resultados indicaram que mesmo após 24 horas ainda havia uma grande liberação de monômero residual, que tende a diminuir somente com o passar do tempo. O monômero é um líquido de metacrilato de metila considerado, por alguns autores, com alto potencial genotóxico e citotóxico (Tsuchiya et al. 1994; Sheridan et al. 1997; Jorge et al. 2003). Quando esse líquido é misturado ao polímero, ocorre uma reação de polimerização, e geralmente ao final dela ainda existem conversões a serem completadas. Dessa forma, produtos como monômero residual, formaldeído e ácido metacrílico são liberados no meio mesmo após a instalação do aparelho protético, podendo gerar certas respostas celulares e reações teciduais (Kedjarune et al. 1999; Pfeiffer; Resenbauer; 2004; Gonçalves et al. 2008; Bural et al. 2011).

Outro fator importante desse trabalho foi a utilização da metodologia do contato direto dos corpos de prova com a cultura celular, após 24 horas da sua confecção e esterilização dos espécimes. Esta metodologia foi adotada visando aproximar os resultados com o que ocorre na clínica, onde geralmente, as próteses são mantidas em água a 50ºC por 24 horas previamente a instalação na cavidade. Este método de contato direto não foi empregado por nenhum dos estudos encontrados sobre viabilidade celular em prótese ocular, os quais empregaram eluatos de 72 horas dos corpos de prova sobre as células (Da Silva et al. 2016a; Da Silva et al. 2016b) e verificaram que, embora as células apresentassem comportamentos divergentes, não foram detectados graus de citotoxicidade dos materiais.

Mesmo com resultados divergentes aos estudos já desenvolvidos, é importante salientar que este estudo apresenta duas técnicas para a caracterização da superfície da esclera de uma prótese ocular, técnica direta e indireta. Da Silva et al. (2016a) que avaliaram a citotoxicidade da resina acrílica para prótese ocular com adição de pigmentos na proporção de 7% do peso do polímero (pigmentação intrínseca) durante a mistura da massa, ressalta a importância de serem desenvolvidos trabalhos que avaliem a citotoxicidade da técnica extrínseca, que no presente estudo foi denominada como técnica de caracterização direta, e segundo Retamoso et al. (2014), embora a citotoxicidade da resina acrílica já tenha sido avaliada, ainda não foram realizados

estudos suficientes para verificar a influência e efeito dos pigmentos acrílicos coloridos sobre a cultura celular.

Uma das limitações do estudo está relacionada à mensuração das propriedades em um só tempo, porém a resposta quanto à influência das técnicas de caracterização sobre as propriedades ao longo do tempo pode ser obtida por meio da realização de estudos que favoreçam o acompanhamento por um maior período de tempo. Além disso, não foi possível a obtenção de respostas quanto a viabilidade celular por meio da metodologia empregada, sendo necessária a realização de estudos que empreguem os eluatos dos espécimes obtidos por meio das diferentes técnicas de caracterização apresentadas.

Parte 2 – Influência das etapas laboratoriais para a confecção de uma prótese ocular na alteração de cor da íris.

O sucesso da reabilitação protética do globo ocular pode ser considerado quando obtida a harmonia da forma, da movimentação e da cor semelhante ao olho remanescente. Especificamente em relação à cor, a íris tem papel fundamental e é de difícil reprodução por depender da habilidade e disciplina do profissional (Alfenas et al., 2018), o qual com bom treinamento e estudo, adquire as habilidades necessárias. Porém, uma vez ultrapassado este obstáculo, o profissional pode se deparar com frustações geradas pelas alterações de cor inerentes ao processo de obtenção da íris e da própria prótese finalizada. Fatores como substrato de obtenção da íris (pintura em papel cartão ou acrílico, impressão da imagem fotográfica), tipo de tinta, tempo de secagem da pintura, material de proteção para íris, meio e ciclo de polimerização, podem interferir no resultado final (Travers, 1935; Meissner, 1960; Fonseca, Rode, Rosa, 1973; Carvalho, 1977; Rezende et al., 1987; Sykes, 1996; O'brien, 1997; Fernandes; Goiato; Santos, 2007; Reis; Dias; Carvalho, 2008; Fernandes et al., 2009; Goiato et al., 2010; Goiato et al., 2011; Mundim et al., 2012; Prithviraj et al., 2013; Buzayan et al., 2015; Goiato et al., 2015; Moreno et al., 2015; Alfenas et al., 2018).

Além desses fatores, seria possível que o substrato de inclusão da íris também pudesse interferir na estabilidade de cor, embora, pelo nosso conhecimento, nenhum estudo foi realizado avaliando este fator de variação. Esta hipótese foi levantada com base em um problema clínico enfrentado durante os atendimentos na disciplina de prótese ocular da FORP – USP, ou seja, a ocorrência do "espelhamento" da pintura. Como padrão neste atendimento, emprega-se, rotineiramente a pintura com tinta acrílica, proteção com cianoacrilato e tempo de secagem de 24 horas entre a pintura, aplicação da proteção e mais 24 horas para a secagem desta camada e processamento. A variação ocorre em relação ao substrato, onde em algumas ocasiões a íris é

capturada no padrão de cera e em outras no padrão de resina, sendo observado o “espelhamento” em algumas ocasiões. Assim, um dos objetivos do trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes substratos de fixação da íris variando o tempo de secagem da pintura associada a diferentes agentes de proteção da pintura e o tempo de armazenamento sobre a alteração de cor.

Para esse trabalho foram utilizadas as calotas acrílicas pré-fabricadas associadas a pintura invertida com tinta acrílica a fim de minimizar os efeitos negativos das etapas de confecção e polimerização, na tentativa de proteger a pintura da ação direta do monômero residual (Artopoulou et al., 2006). A pintura invertida facilita a realização dos processos da pintura e possibilita que os componentes da íris (pupila, camada peripupilar, raiados, alo externo) sejam pintados progressivamente e em camadas finas de tinta. A calota acrílica pré-fabricada permitir também que a sua pintura e posicionamento sejam verificados clinicamente, previamente ao procesamento final da prótese (Graziani, 1982; Rezende et al., 1987; Rezende et al.,1997; Alves, Carvalho, 2004; Artopoulou et al., 2006; Fernandes, Goiato, Santos, 2007). Com relação à seleção da tinta, podem ser utilizados diferentes tipos e embora a tinta à base de óleo apresente boa estabilidade de cor (Fernandes et al., 2009), precisa de um maior tempo de secagem ou da adição de agente secante (Fernandes et al., 2007) e possui metais pesados em sua composição como o cobalto. Assim, foi selecionada a tinta acrílica, considerada um polímero, por ser solúvel em água, apresentar cheiro menos intenso que o da tinta óleo e por também apresentar bons resultados (Mundim et al., 2012). Ainda relacionado à tinta, a instabilidade da cor pode ocorrer pelo tom utilizado; pigmentos escuros apresentam-se mais resistentes aos efeitos de degradação por formarem ligações químicas mais estáveis e que não se quebrarem na polimerização (Goiato et al., 2010; Goiato et al., 2011). Para o presente estudo, foram avaliadas somente cores escuras, embora na clínica haja necessidade de íris de diferentes cores (preto, castanho, azul, verde e suas variações), as quais podem apresentar comportamentos diferentes frente a um mesmo processo (Fernandes et al., 2009).

Com base nos resultados do presente estudo, a hipótese nula foi rejeitada, uma vez que a cor foi influenciada pelo tempo de secagem/proteção independentemente do substrato e tempo de armazenamento (entre grupos), bem como pelas interações tempo de armazenamento (T1, T2 e T3) e tempo de secagem/proteção da íris (24 ou uma hora, cianoacrilato associado ou não ao polímero e monopólio associado ao polímero); tempo de secagem/proteção e substrato (cera ou resina).

Com relação aos grupos, verifica-se que todos apresentaram variações de cor clinicamente significantes, sendo considerada como “grande” alteração pelo sistema de Unidades NBS (National Bureau of Standards), o qual também foi empregado visando

comparar alteração de cor e relevância clínica. Ambos os sistemas (CIELab e NBS) são comumente associados para avaliação da alteração de cor de resina acrílica (Peracini et al., 2010). A maior alteração de cor ocorreu no grupo G5, ou seja, 24 horas de secagem da pintura, proteção com cianoacrilato + polímero incolor e processamento após 24 horas e a menor alteração ocorreu no grupo G4, o qual utilizou tempo de secagem da íris de uma hora e proteção com monopólio + polímero incolor. A secagem da tinta e da proteção foi realizada em ambiente natural, uma vez que a literatura não indica diferença entre a secagem em ambiente natural e a utilização de luz ultra-violeta, por exemplo (Fernandes et al.,2007), não havendo assim a necessidade de mais um procedimento. Era esperado que o maior tempo de secagem, tanto da tinta quanto da camada protetora, resultasse em menor alteração de cor (Pereira et al., 2007). Porém, isto não ocorreu, indicando que a camada protetora teve mais influência nos resultados do que os tempos de secagem. No que diz respeito aos tempos de secagem de 01 hora, este resultado é favorável pois viabiliza os procedimentos laboratoriais em menor tempo, tornando o processo mais ágil e, consequentemente, a reabilitação do paciente pode ser mais dinâmica. A depender de cada caso clínico, com este resultado é possível completar a reabilitação em um único dia. Com relação ao agente protetor, a literatura indica a aplicação de diferentes agentes como forma de proteção da pintura, dentre os quais podem ser encontrados o cianoacrilato (Seixas, 1984), cola branca a base de polímero de acetato de vinila (Pereira, 2007), verniz (Rezende, 1997; Rossi et al., 2012; Banwart et al., 2013) e monopólio, uma mistura de polímero saturado com monômero e cianoacrilato (Pereira, 2007).

Os cianoacrilatos têm sido utilizados na medicina e na odontologia com diferentes aplicações (Alan, 2018; BinMahfooz, Qutub, 2018; Tavelli et al., 2018) e apresentou boa união à resina acrílica quando utilizado como agente de proteção da pintura (Seixas, 1984). O cianoacrilato é um agente adesivo líquido, de baixa viscosidade, incolor e não solúvel em água. É um monocomponente derivado do ácido cianoacrílico e não requer mistura. Sua polimerização é rápida quando em contato com a água, ar e superfícies, com tempo de adesão menor que 20 segundos quando em contato ao plástico (Weber, Chapman, 1984). O monopólio é uma mistura de polímero incolor saturado por monômero termopolimerizável obtido pela mistura dos dois componentes em banho maria (Bankoti et al., 2016) ou pode ser adquirido comercialmente, via importação. Pelos nossos conhecimentos, não há, no mercado nacional, fornecedores para esta matéria prima. A vantagem do cianoacrilato como agente protetor se dá pelo tempo de polimerização, por ser de baixo custo, ser resistente à temperatura, não precisar de preparo e durabilidade. Entretanto, o uso do cianoacrilato com secagem de 24 horas, apresentou a maior alteração de cor se comparado ao monopólio + polímero incolor após 1 hora

de secagem. Não há literatura referência a esta questão, mas o resultado sugere que a alteração de cor pode ter sido influenciada por reação química entre o cianoacrilato e a resina acrílica da esclera, bem como com a tinta acrílica, caracterizada como um polímero. Este resultado nos sugere ainda que houve maior compatibilidade entre o monopólio, tinta e esclera, embora acreditava-se que, devido ao monômero residual este seria mais danoso à cor (Fernandes et al., 2009). Quando o cianoacrilato foi associado ao polímero incolor com secagem de 1 hora, a alteração de cor foi significativamente menor se comparado à mesma combinação com tempo de secagem por 24 horas. A presença do polímero pode ter tornado a reação entre todos os constituintes do corpo de prova mais estável.

Os resultados do presente estudo também indicaram que a cor foi influenciada pelo tempo de armazenamento de 28 dias. Na leitura imediatamente após a confecção das próteses (T1), os maiores valores para a alteração de cor foram observados para o grupo G1 (24 hr de secagem da pintura e da proteção – cianoacrilato) e os menores para o grupo G4 (1 hr de secagem da pintura e da proteção – monopólio + polímero incolor), com os demais grupos apresentando valores intermediários. Após 14 dias, não houve diferença entre os grupos, porém, após 28 dias decorridos da confecção (T3) o G5 apresentou a maior alteração de cor, enquanto os demais se igualaram e permaneceram estáveis. Isto indica que além do grupo G5 ter apresentado a maior alteração de cor, ele foi o mais instável ao longo do tempo. Este resultado apoia a ideia de que o cianoacrilato pode ter reagido com a tinta e a resina da esclera, tornando-se instável ao longo do tempo. Uma prótese ocular bem mimetizada e natural, garante ao usuário, além da reabilitação da cavidade anoftálmica, sua reinserção na sociedade com a melhora da sua autoestima e auto percepção (Chalian, Drane, Standish, 1971; Raizada, Rani, 2007). A cor correta da íris é um dos mais importantes fatores para a aceitação do aparelho protético por parte do paciente, devendo ser observada durante a confecção, após a confecção e após a instalação, pois alterações dessa característica levam a necessidade de substituição antecipada da prótese, mesmo que sua adaptação ainda esteja boa (Kohlhaas, Schulz, 2001; Raizada, Rani, 2007; Goiato et al., 2008).

Ao analisarmos a alteração de cor quando da interação entre Grupo x Substrato, a cera influenciou a maior alteração de cor dos grupos G1 (cianoacrilato e 24 horas), G2 (cianoacrilato e 1 hora) e G4 (monopólio + polímero incolor e 1 hora). Dentro de cada substrato, o grupo G6 (cianoacrilato + polímero incolor e 1h) foi mais estável quando fixado em cera e o grupo G4 (monopólio + polímero incolor e 1h) foi mais estável quando fixado na resina. A hipótese para este resultado é que ao prensar a resina sobre a íris após a remoção da cera, a quantidade de resina é maior se comparada à quantidade de resina utilizada para fixar a íris já no padrão de

resina acrílica. Esta diferença de volume do material pode causar o tracionamento da pintura devido a maior contração da resina, gerando assim, o descolamento da tinta da base da calota acrílica e o efeito de espelhamento, o qual foi observado em todos os grupos. A análise visual confirma a os resultados obtidos pelo sistema CIELab, uma vez que as alterações foram maiores nos grupos G2, G3, G4 e G5 incluídos em cera, quando comparadas com a resina. O espelhamento foi uma das alterações observadas com maior frequência nos três tempos de armazenamento, mesmo tendo desaparecido em alguns espécimes após 28 dias. A alteração de tom ocorreu de forma progressiva após 14 e 28 dias. Após o processamento, alguns espécimes apresentaram alteração da cor da tinta, com manchamento verde no centro e esta característica apareceu em outros espécimes ao longo do tempo. Embora a literatura indique que as tintas em cores escuras são mais estáveis, a reação entre os agentes de proteção e a tinta pode ter causado sua degradação.

Estudos que avaliaram o tempo e o meio de polimerização, o envelhecimento acelerado, o tipo de tinta e meio de secagem associados à alteração de cor foram encontrados, porém a discussão para esta propriedade torna-se limitada devido à ausência de estudos que incluíram a análise do substrato em suas metodologias. Por outro lado, os resultados trazem informações importantes, indicando que o uso do monopólio com uma camada de polímero com tempo de secagem de uma hora para a tinta e para a camada protetora associado à fixação da íris direto na esclera em resina tornam o procedimento mais seguro quanto à ocorrência de alteração de cor.

Estudos futuros devem ser realizados empregando um tempo maior de acompanhamento e maior número de corpos de prova, visto que, algumas das alterações detectadas visualmente no início sofreram regressão com a manutenção das próteses em água a temperatura de 37ºC ou apareceram tardiamente.

7. Conclusão

Considerando as limitações deste estudo e avaliando os resultados obtidos pode-se concluir que:

1. A técnica de caracterização indireta promoveu menor formação de poros quando comparada à técnica de caracterização direta.
2. A rugosidade do material não foi afetada pela aplicação das diferentes técnicas de caracterização.
3. A dureza do material foi menor com a utilização das técnicas de caracterização quando comparadas ao controle, entretanto, os valores obtidos são clinicamente aceitáveis.
4. O contato direto dos corpos de prova com as células conjuntivas empregadas interferiu negativamente na viabilidade celular.
5. O tempo de secagem de uma hora com a proteção da íris com monopólio associado ao polímero e inclusão da íris em resina parece ser um protocolo mais seguro quanto à alteração de cor quando comparado aos demais, embora todas as próteses oculares tenham sofrido alteração de cor acima dos limites clinicamente aceitáveis.

8. Referências Bibliográficas

1. Ahn SJ, Oh JY, Kim MK, Lee JH, Wee WR. Clinical features, predisposing factors, and treatment outcomes of scleritis in the Korean population. Korean J Ophthalmol. 2010 Dec; 24 (6) 331-5.

2. Alam MS. Use of cyanoacrylate glue for replacing orbital bone after lateral orbititimy: A pilot study. Ophthalmic Plast Reconstr Surg. 2018;34(6):601-03

3. Alfenas ER, da Silva JGBPCP, Silveira MES, Fonseca MFL, de Arruda JAA, Moreno A. A Painting Technique Using Ceramic Pigments for the Artificial Iris of an Ocular Prosthesis Guided by Applying Newton's Color Wheel. Journal of Prosthodontics. March 2018 (0) 1–4 by the American College of Prosthodontists.

4. Alves MCAP, Carvalho JCM. Ocular prosthesis-evaluation of the esthetics and of the stability of the color of the painted iris with acrylic paint and oil paint. RPG 2004; 11:57-60.

5. Ambrose CT. An amended history of tissue culture: Concerning Harrison, Burrows, Mall, and Carrel. J Med Biogr. 2016 Jan 1:967772016685033.

6. American National Standards Institute (ANSI)/American Dental Association, Specification No. 33, Dental product standards development vocabulary. Chicago: American Dental Association; 2003.

7. Andreotti AM, Goiato MC, Moreno A, Nobrega AS, Pesqueira AA, dos santos DM. Influence of nano particles on color stability, microhardness, and flexural strength of acrylic resins specific for ocular prosthesis. International Journal of Nanomedicine 2014:9 5779–5787

8. Anusavice KJ, Shen C, Rawis HR. Anusavice – Phillips Materiais Dentários. 12ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2012. 592p.

9. Artopoulou II, Montgomery PC, Wesley PJ, Lemon JC. Digital imaging in the fabrication of ocular prostheses. J Prosthet Dent; 2006 95:327-330.

10. Azzarri MJ, Cortizo MS, Alessandrini JL, et al. Effect of the curing conditions on the properties of an acrylic denture base resin microwave-polymerised J Dent. 2003; 31:63-468;

11. Bankoti P, Singhal MK, Nair C, Chandra P. Characterization of an eye prosthesis using monopoly syrup. Indian J Dent Res. 2016; 27(5): 553-58.

12. Bannwart LC, Goiato MC, dos Santos DM, Moreno A, Pesqueira AA, Haddad MF, Andreotti AM, de Medeiros RA. Chromatic changes to artificial irises produced using different techniques. Journal of Biomedical Optics. May 2013 18(5): 058002.

13. Benson P. The fitting and fabrication of a custom resin artificial eye. J Prosthet Dent 1977 Nov: 38 (5):532–538.

14. BinMahfooz AM, Qutub OA. Effect of Surface Treatments and Adhesive Materials on the Shear Bond Strength of Artificial Denture Teeth to Denture Base Resins. J Contemp Dent Pract. 2018,1;19(6):631-36.

15. Bollen CM, 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. Dent Mater J. 1997; 13(4): 258-69.

16. Borges LH. Influência de ciclos de polimerização sobre o polimento, rugosidade, porosidade e dureza superficial da resina acrílica QC-20. [Dissertação de Mestrado]. Piracicaba; Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP. 1998.

17. Borra RC, Lotufo MA, Gagioti SM, Barros FM, Andrade PM. A simple method to measure cell viability in proliferation and cytotoxicity assays. Braz. oral res. vol.23 no.3 São Paulo July/Sept. 2009.

18. Bural C, Aktas E, Deniz G, Unluçerçi Y, Bayraktar G. Effect of leaching residual methyl methacrylate concentrations on in vitro cytotoxicity of heat polymerized denture base acrylic resin processed with different polymerization cycles. J Appl Oral Sci. 2011. 19 (4). P.306-312.

19. Buckel M, Bovet J. The eye as un art form: the ocular prosthesis. Klin. Monatsbl. Augenheild. 1992 May: 200: 594-5.

20. Buzayan MM, Ariffin YT, Yunus N, Mahmood WA. Ocular Defect Rehabilitation Using Photography and Digital Imaging: A Clinical Report. J Prosthodont. 2015 Aug;24(6):506-10.

21. Cain JR. Custom ocular prosthetics. J Prosthet Dent 1982; 48: 690–694

22. Canadas MD, Garcia LF, Consani S, Pires-de-Souza FC. Color Stability, Surface Roughness, and Surface Porosity of Acrylic Resins for Eye Sclera Polymerized by Different Heat Sources. J Prosthodont 2010; 19:52-57.

23. Carvalho JCM. Prótese ocular incolor em concha. Rev Fac Odontol Univ São Paulo. 1977;15:281-6.

24. Chalian VA, Drane JB. Standish SM. Maxillofacial prosthetics. Multidisciplii practice. Baltimore: Williams & Wilkins, 1971 p.294-394.

25. Chamaria A, Aras MA, Chitre V, Costa GCD. Iris Positioning Using a Grid Attached to a Spring Bow for a Custom Ocular Prosthesis. J Clin Diagn Res. 2017;11(3):ZD12-ZD13.

26. Chattopadhyay SK, Shetty P, Sinha S. Ocular Prosthesis in Phthisis Bulbi: Patient Rehabilitation. Adv Hum Biol. 2016;6:108-10.

27. Chinnery H, Thompson SBN, Noroozi S, Dyer B. Scoping review of the development of artificial eyes throughout the years. Edorium J Disabil Rehabil. 2017;3:1–10.

28. Choubisa D. A simplified approach to rehabilitate an ocular defect: Ocular prosthesis. J Indian Prosthodont Soc. 2017 Jan-Mar; 17(1): 89-94.

29. Compagnoni MA, Barbosa DB, de Souza RF, et al.: The effect of polymerization cycles on porosity of microwave-processed denture base resin. J Prosthet Dent 2004; 91: 281-285.

30. Conroy B.F. A brief sortie in to the history of cranio-oculo-facial prosthetics. Facial Plast.

31. Surg.1993 9: 89-115.

32. Cyrillo PI. Aspectos psicológicos relacionados aos portadores de lesões oculares e autilização de prótese. In: Fonseca EP. Prótese ocular. São Paulo: Panamed; 1987 p.181-90.

33. da Costa GC, Aras MA, Chalakkal P, Da Costa MC. Ocular prosthesis incorporating IPS e-max press scleral veneer and a literature review on non-integrated ocular prosthesis. Int J Ophthalmol. 2017 Jan 18; 10(1): 148-156.

34. da Silva EV, Goiato MC, Dos Santos DM, Bonatto LD, Brito VG, de Oliveira SH. Effect of different methods of polymerizing ocular prosthesis acrylic resin on a human conjunctival cell line; J Prosthet Dent. 2016;116(5):818-823a.

35. da Silva EVF, Goiato MC, Bonatto LDR, de Medeiros RA, Santos DMD, Rangel EC, Oliveira SHP. Toxicity analysis of ocular prosthesis acrylic resin with or without pigment incorporation in human conjunctival cell line. Toxicol In Vitro. 2016;36:180-185b.

36. Dias FJ, ISSA J.P.M, Iyomasa MM, Coutinho-Netto J, Calzzani RAJ, Iyomasa DM, Sousa LG, Almeida SRY, Cury DP, Watanabe I. Application of a Low-Level Laser Therapy and the Purified Protein from Natural Latex (Hevea brasiliensis) in the Controlled Crush Injury of the Sciatic Nerve of Rats: A Morphological, Quantitative, and Ultrastructural Study. Biomed Res Int, v.2013, p.1-11, 2013.

37. Erpf SF. Comparative features of plastic and/or glass in artificial-eye construction. Arch Ophthalmol 1953; 50: 737.

38. Fernandes AUR, Goiato MC, dos Santos DM. Alteração da cor marrom em pintura de íris de próteses oculares: efeito da tinta, do método de secagem e do envelhecimento acelerado. Revista de Odontologia da UNESP. 2007; 36(4): 365-370.

39. Fernandes AUR, Goiato MC, Batista MAJ, Santos DM. Color alteration of the paint used for iris painting in ocular prostheses. Braz Oral Res. 2009 Oct-Dec;23(4):386-92.

40. Fonseca EP. Confecção da prótese ocular. Rev. Port Estomat. 1968 Abr/Jun 9: 41-55.

41. Fonseca EP, Rode R, Rosa MP. Íris em prótese ocular. Rev. Assoc. Paul. Cir. Den. 1973 Nov/Dez 27: 360-8.

42. Fonseca EP, Rode R. Prótese oftálmica. Ars Cvrandi Oftamol 1974 Nov 1(5): 33-60.

43. Fonseca EP, Rosé M. História da prótese ocular. In: Fonseca E.P. Prótese ocular. São Paulo: Panarned, 1987 Cap 2, p. 19-37.

44. Fonseca EP. Histórico da prótese ocular. In Fonseca Prótese ocular. São Paulo: CIP; 1987 p.17-22.

45. Freshney RI. Basic Principles of Cell Culture, in Culture of Cells for Tissue Engineering (ed G. Vunjak-Novakovic and RI Freshney), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. 2006. Inc Ch1.(p.03-22). doi:10.1002/0471741817.

46. Gardner LK et al. Vinilpolysiloxano flasking of an ocular prosthesis. J. Prosthet, Dent. 1993 May 69: 543-4.

47. Goiato MC, de FARIAS CG, dos SANTOS DM, FERNANDES AUR, DEKON SFC. Evaluation of dimensional alteration and porosity in ocular prosthetics polimerized with microwaves. Cienc Odontol Bras 2004 jul./set.; 7 (3): 22-9

48. Goiato MC, dos Santos DM, Barão VAR, de Souza JF, Pesqueira AA, Fernandes AUR. Influence of the enclosure, polishing and period of storage, about the roughness of the acrylic resins in the making of ocular prosthetics. Cienc Odontol Bras 2007 jan./mar.; 10 (1): 40-46

49. Goiato MC, Moreno A, dos Santos DM, de Carvalho Dekon SF, Pellizzer EP, Pesqueira AA. Effect of polymerization and accelerated aging on iris color stability of ocular prosthesis. Cont Lens Anterior Eye. 2010 Oct; 33(5): 215-8.a

50. Goiato MC, dos Santos DM, de Souza JF, Moreno A, Pesqueira AA. Chromatic stability of acrylic resins of artificial eyes submitted to accelerated aging and polishing. J Appl Oral Sci. 2010 Nov-Dec; 18(6): 641–645.b

51. Goiato MC, Nicolau EI, Mazaro JV, Dos Santos DM, Vedovatto E, Zavanelli AC, Filho HG, Pellizzer EP. Mobility, Aesthetic, Implants, and Satisfaction of the Ocular Prostheses Wearers. J Craniofac Surg 2010; 21: 160-4.

52. Goiato MC, dos Santos DM, Moreno A, Gennari-Filho H, Pellizzer EP. Evaluation of the color stability of two techniques for reproducing artificial irides after microwave polymerization J Appl Oral Sci.12011;19(3):200-3 a

53. Goiato MC, Fernandes AUR, dos Santos DM, Haddad MF, Moreno A, Pesqueira AA. Alteration of blue pigment in artificial iris in ocular prosthesis: Effect of paint, drying method and artificial aging. Cont Lens Anterior Eye. 2011 Feb; 34(1): 22-5. b

54. Gonçalves AR, Neto DRS, Neisser MP, Rode SM. Avaliação da dureza e resistência ao impacto da resina acrílica para esclera de prótese ocular. Rev Fac Odontol São José dos Campos, set./dez. 2001 v.4, n.3.

55. 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;129(3):431–435.

56. Gonçalves TS, Menezes LM, Silva LE. Residual monomer of autopolymerized acrylic resin according to different manipulation and polishing methods. Angle Orthod. 2008;78(4):722–727.

57. Graziani, M. Prótese Maxilofacial. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 3ªed. 1982.

58. Hanning M. Transmission electron microscopy of early plaque formation on dental materials in vivo. Eur J Oral Sci. 1999; 107(1): 55-64.

59. Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. Exp. Cell Res. 1965. 37: p.614-636.

60. Heath JR, Wilson HJ. Surface roughness of restorations. Br Dent J. 1976 Feb 17;140(4):131-7.

61. Jain S, Jain P. Rehabilitation of orbital cavity after orbital exenteration using polymethyl methacrylate orbital prosthesis. J Indian Prosthodont Soc. 2016;16(1):100-4.

62. Jamayet NB, Kirangi JK, Husein A, Alam MK. A comparative assessment of prosthetic outcome on enucleation and evisceration in three different etiological eye defects: A case series. Eur J Dent. 2017;11:130-34.

63. Jorge JH, Giampaolo ET, Machado AL, Vergani CE. Cytotoxicity of denture base acrylic resins: a literature review. J Prosthet Dent. 2003;90(2):190–193.

64. Josso B, Burton DR, Lalor MJ. Frequency normalised wavelet transform for surface roughness analysis and characterisation. Wear. 2002. v.252, n.5, p.491-500.

65. Kelley JJ. History of ocular prosthesis. lntern. Ophtalmol. Clin. 1971 v.10: 713-9.

66. 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;44(1):25–30.

67. Kuhar M, Funduk N. Effects of polishing techniques on the surface roughness of acrylic denture base resins. J Prosthet Dent. 2005; 93(1): 76-85.

68. Lee SY, Lai YL, Hsu TS. Influence of polymerization conditions on monomer elution and microhardness of autopolymerided polymethyl methacrylate resin. Eur J Oral Sci. 2002; 110: 179-183.

69. Loney RW, Moulding MB, Hacker CH, Ritsco RG. Finishing and polishing of a poly (fluoroalkoxyphosphazene) resilient denture liner. Int J Prosthodont. 1994 Jul-Aug;7(4):362-7.

70. Medeiros RA, Silva EVF, Bonatto LR, Oliveira SHP, Pesqueira AA, Goiato MC. Análise da toxicidade da resina acrílica de prótese ocular e pigmento acrílico sobre as células da conjuntiva humana. Arch Health Invest 2015;4 (Spec Iss 2): 25-380 Proceedings of the 5º Congresso Odontológico de Araçatuba - Unesp/Annual Meeting.

71. Meissner E. Propriedades y ventajas de una prótesis ocular de material plástico. Rev Odontol Concepción. 1960:7(3):84-7. 13.

72. Modugno A, Mantelli F, Sposato S, Moretti C, Lambiase A, Bonini S. Ocular prostheses in the last century: a retrospective analysis of 8018 patients. Eye (Lond). 2013 Jul 27(7): 865-70.

73. Monsenego P, Baszkin A, Costa ML, Lejoyeux J. Complete denture retention. Part II: Wettability studies on various acrylic resin denture base materials. J Prosthet Dent. 1989;62(3):308-12.

74. Moreno A, Goiato MC, Oliveira KF, Iyda MG, Haddad MF, de Carvalho Dekon SF, dos Santos DM. Color stability of the artificial iris button in an ocular prosthesis before and after acrylic resin polymerization. Cont Lens Anterior Eye. 2015;38(6): 414-8.

75. Moura JS, da Silva WJ, Pereira T, et al.: Influence of acrylic resin polymerization methods and saliva on the adherence of four Candida species. J Prosthet Dent 2006; 96: 205-211.

76. Mundim FM, Antunes PL, Sousa AB, Garcia LF, Pires-de-Souza FC. Influence of artificial accelerated ageing on the colour stability of paints used for ocular prosthesis iris painting. The Gerodontology Society and John Wiley & Sons A/S, Gerodontology 2012; 29: e312–e317

77. Nagay BE, Bonatto LR, Sonego MV, Silva EVF, Moreno A, Santos DM. Análise in vitro da rugosidade de resinas acrílicas oculares com ou sem glaze submetidas ao envelhecimento acelerado. Arch Health Invest 2015;4 (Spec Iss 2): 25-380 Proceedings of the 5º Congresso Odontológico de Araçatuba - Unesp/Annual Meeting).

78. O'brien WJ. Dental materials and their selection., 2nd ed. Chicago: Quintessence; 1997. p.115-122.

79. Oliveira EK. Prótese facial I, prótese ocular. In: MORONI, P.Reabilitação bucofacial: Cirurgia e Prótese. São Paulo: Panamed, 1982 p. 301-39.

80. Pathak C, Pawah S, Singh G, Yadav I, Kundra S. Prosthetic Rehabilitation of Completely Blind Subject with Bilateral Customised Ocular Prosthesis: A Case Report. J Clin Diagn Res. 2017;11(1):ZD06-ZD08.

81. Peracini A, Davi LR, de Queiroz Ribeiro N, de Souza RF, Lovato da Silva CH, de Freitas Oliveira Paranhos H. Effect of denture cleansers on physical properties of heat-polymerized acrylic resin. J Prosthodont Res. 2010. Apr;54(2):78-83.

82. Pereira SL. Avaliação de diferentes materiais utilizados no selamento da íris protética em relação à tinta acrílica utilizada em sua pintura. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2007.

83. Perrone A et al. Prótese ocular, revisão da lileratura e apresentação de um caso clínico. Rev. Foc. Odontol. Porto Alegre. 1996 Jul 37: 3-14.

84. Pfeiffer P, Resenbauer EU. Residual methyl methacrilate monomer, water sorption, and water solubility of hypoallergenic denture base materials. J Prosthet Dent. 2004;92(1):72-8.

85. Phillips RW. Propriedades físicas dos materiais dentários. Materiais Dentários. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996

86. Pine K, Sloan B, Stewart J, Jacobs RJ. Concerns of anophthalmic patients wearing artificial eyes. Clin Exp Ophthalmol. 2011 Jan 39 (1):47-52.

87. Pitton RD et al. The development of acrylic eye prosthesis all the National Naval Medical Center. J. Am. Dent. Assoc. 1945 Oct 32: 1227-44.

88. 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. J Clin Periodontol 1990; 17: 138-144.

89. Rai R, Dinakar D, Kurian SS, Bindoo YA. Investigation of contact allergy to dental materials by patch testing. Indian Dermatol Online J. 2014 Jul; 5(3):282-6.

90. Raizada K, Rani D. Ocular Prosthesis. Cont Lens Anterior Eye. 2007 30: 152-62.

91. Rasmussen ML, Prause JU, Toft PB. Phantom pain after eye amputation. Acta Ophthalmol. 2011 Feb; 89(1): 10-6.

92. Reis RC, Dias RB, Carvalho JCM. Evaluation of Iris Color Stability in Ocular Prosthesis. Braz Dent J 2008; 19: 370-4. 24.

93. Reis RC, Dias RB. Uso de íris digitalizada na reabilitação protética ocular. RFO, Passo Fundo, v. 18, n. 1, p. 94-100, jan./abr. 2013.

94. Retamoso LB, da Cunha TMA, Pithon MM, dos Santos RL, Martins FO, Romanos MTV, Tanaka OM. In vitro cytotoxicity of self-curing acrylic resins of different colors. Dental Press J Orthod. 2014 Jul-Aug; 19(4): p.66–70.

95. Rezende JRV. Método rápido para fabricação de prótese ocular. Rev Assoc Paul Cirurg Dent. 1978;32(6):452-60.

96. Rezende JRV, Oliveira JAP, Dias RB. Prótese buco maxilo facial. Conceitos básicos e práticas de laboratório. São Paulo: Sarvier;1986. 31 p.

97. Rezende JRV, Macedo FF, Miracca R, Fonseca EP. Confecção e Reembasamento em prótese ocular. In: Fonseca EP. Prótese Ocular. 1ªed. Panamed Editorial, São Paulo, 1987.

98. Rezende JRV. Prótese Ocular. In: Rezende Fundamentos da prótese-buco-maxilo-facial. São Paulo: Sarvier. 1997 Cap.10.p.129-44.

99. Rode R, Rode SM. Prótese ocular em concha individualizada. Rev. Assoc Paul Cir Dent 1980 Maio/Jun 34(3): 204-10.

100. Rossi JB Andreotti AM, Moreno A, Santos DM, Medeiros RA, Goiato MC. Efeito da polimerização da resina incolor sobre a estabilidade de cor de botões de íris artificiais obtidos por diferentes técnicas e variação da proteção da tinta. Arch Health Invest 2012; 1 (Suppl.1 - Proceedings of the XI Encontro de Estomatologia/Annual Meeting):31

101. Ruiters S, Sun Y, de Jong S, Politis C, Mombaerts I. Computer-aided design and three-dimensional printing in the manufacturing of an ocular prosthesis. Br J Ophthalmol. 2016 Apr 27. pii: bjophthalmol-2016-308399. doi: 10.1136/bjophthalmol-2016-308399.

102. Saboya ACL et al. Avaliação da dureza Shore A e da resislência ao rasgamenlo de alguns silicones acéticos modificados para uso em prótese facial. Rev. Odontol. Univ. São Paulo. 1997 Abr/Jun 11: 93-97.

103. Seixas ZA. Prótese ocular: contribuição ao estudo da confecção da íris protética. (Dissertação de Mestrado). São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP, 1984.

104. Sheridan PJ, Koka S, Ewoldsen NO, Lefebvre CA, Lavin MT. Cytotoxicity of denture base resins. Int J Prosthodont. 1997;10(1):73–77.

105. Silva DP, Carvalho JCM. Prótese ocular: estudo preliminar de diferentes tintas para pintura de íris. Rev Facul Odontol. 1994 v8, p71-76.

106. Suzuki S. In vitro wear of nano-composite denture teeth. J Prosthodont. 2004 (13) p.238-243.

107. Sweeney AB, Fisher TE, Castleberry DJ, et al: Evaluation of improved maxillofacial prosthetic materials. J Prosthet Dent 1972;27:297-305 28.

108. Sykes LM. Custom made ocular prostheses: a clinical report. J Prosthet Dent. 1996; 75:1-3.

109. Taleb et al. As Condições de Saúde Ocular no Brasil. 1ª edição, Conselho Brasileira de Oftalmologia, 2012. p.38-73.

110. Tanji M. Estudo comparativo entre tipos de resinas acrílicas sobre as variáveis resistência ao impacto, dureza de superfície, rugosidade e porosidade. [Dissertação de Mestrado]. Piracicaba; Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP. 2000.

111. Tavelli L, Ravidà A, Saleh MHA, Maska B, Del Amo FS, Rasperini G, Wang HL. Pain perception following epithelialized gingival graft harvesting: a randomized clinical trial. Clin Oral Investig. 2018 Apr 30. doi: 10.1007/s00784-018-2455-5.

112. Tokenlaar RE et al. A short history of the artificial leye. Documenta Ophtalmol 1991 77: 349-54.

113. Travers JL. Artificial eyes. U.S. Patent, 1.993.121, Mar. 5, 1935.

114. Tripuraneni S, Vadapalli SB, Atluri K, Potluri R. An innovative impression technique for fabrication of a custom made ocular prosthesis. Indian J Ophthalmol. 2015; 63(10): 808-9.

115. 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;71(6):618–624.

116. Varella MA, Oliveira SRG. Técnica de confecção de prótese ocular. São José dos Campos, 1994. 56p. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

117. Washburn EW. Note on a method of determinig the distribution of pore sizes in a porous Material. Proceedings National Academy of Sciences, 1921 Vol 7, p.115-116.

118. Watanabe D, Bannwart LC, Goiato MC, Santos DM, Silva EVF, Sônego MV, Nobrega AS. Análise da estabilidade de cor de botões de íris artificiais obtidos por diferentes técnicas e após o envelhecimento. Arch Health Invest 2013; 2 (Especial 2 - Proceedings of the 3º Congresso da FOA - Unesp/Annual Meeting).

119. Weber SC, Chapman MW. Adhesive in orthopaedic surgery: a review of the literature and in vitro bonding strengths of bone-bonding agents. Clin. Orthop. 1984;191:249-61.

120. Whitman DJ, McKinney JE, Hinman RW, Hesby RA, Pelleu GB, Jr. In vitro wear rates of three types of commercial denture tooth materials. J Prosthet Dent. 1987 (57) p.243- 246.

121. Wolfaardt JF, Cleaton-Jones P, Fatti P. The occurrence of porosity in a heat-cured poly (methyl methacrylate) denture base resin. J Prosthet Dent 1986 Mar.; 55(3):393-400.

122. Ye J, Lou L, Jin K, Xu Y, Ye X, Moss T, McBain H. Vision-Related Quality of Life and Appearance Concerns Are Associated with Anxiety and Depression after Eye Enucleation: A Cross-Sectional Study. PLoS One. 2015 Aug 28; 10(8): e0136460.

123. Yunus N, Harrison A, Huggett R. Effect of microwave irradiation on the flexural strength and residual monomer levels of acrylic resin repair material. Oral Rehabil. 1994: 21(6): p.641-8.

124. Zhang J, Tuo J, Wang Z, Zhu A, Machalińska A, Long Q. Pathogenesis of Common Ocular Diseases. J Ophthalmol. 2015; 2015:734527.

125. Zou Y, Malzbender J. Development and optimization of porosity measurement techniques. Ceramics International. 2016 v.42 (2) p.2861-2870.