

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

RODRIGO RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DA EXPANSÃO RÁPIDA DA MAXILA DE CRIANÇAS E
ADOLESCENTES ATRAVÉS DO USO DE BIOMARCADORES SALIVARES**

ALFENAS/MG
2018

RODRIGO RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DA EXPANSÃO RÁPIDA DA MAXILA DE CRIANÇAS E
ADOLESCENTES ATRAVÉS DO USO DE BIOMARCADORES SALIVARES**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Odontologia
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vivien Thiemy Sakai
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Aline Carvalho Batista

ALFENAS/MG
2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

R696a Rodrigues, Rodrigo.
Avaliação da expansão rápida da maxila de crianças e adolescentes através do uso de biomarcadores salivares. / Rodrigo Rodrigues – Alfenas/MG, 2018.
53 f.: il. --

Orientadora: Vivien Thiemy Sakai.
Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) - Universidade Federal de Alfenas, 2018.
Bibliografia.

1. Biomarcadores. 2. Ortodontia. 3. Estresse fisiológico. 4. Hidrocortisona. 5. Técnica de expansão palatina. 6. Óxido nítrico. I. Sakai, Vivien Thiemy. II. Título.

CDD-617.643



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG
Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Alfenas/MG. CEP 37130-001



RODRIGO RODRIGUES

AVALIAÇÃO DA EXPANSÃO RÁPIDA DA MAXILA DE CRIANÇAS ATRAVÉS DO USO DE BIOMARCADORES SALIVARES

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Odontologia.

Aprovado em: 31/08/2018

Profa. Dra. Vivien Thiemy Sakai
Instituição: Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG

Assinatura: Vivien T. Sakai

Profa. Dra. Ana Beatriz da Silveira Moretti
Instituição: Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG

Assinatura: Ana Beatriz da Silveira Moretti

Prof. Dr. Lucas Guimarães Abreu
Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais
UFMG

Assinatura: Lucas Guimarães Abreu

AGRADECIMENTOS

*À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alfenas FO/UNIFAL- na
pessoa do diretor **Prof. Dr. Edmêr Silvestre Pereira Júnior***

*Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas da FO/UNIFAL – na
pessoa do **Prof. Dr. João Adolfo Costa Hanemann***

*À administração superior da Universidade Federal de Alfenas na pessoa do
magnífico reitor **Prof. Dr. Sandro Amadeu Cerveira***

*À Universidade Federal de Goiás-UFG na pessoa da **Prof^a Dr^a Aline Carvalho
Batista**, responsável pelo laboratório de análise de saliva.*

*Ao Instituto Marcelo Pedreira-IMP na pessoa do diretor **Ms. Renato do Prado
Gomes Pedreira***

RESUMO

A expansão rápida da maxila (ERM) é uma técnica utilizada para tratamento de maloclusões decorrentes da atresia maxilar. O óxido nítrico (NO) e o cortisol são marcadores biológicos encontrados na saliva para a avaliação de inflamação e estresse, respectivamente, que podem ser causados pelo tratamento ortodôntico. O objetivo deste estudo foi comparar dois tipos de aparelhos usados na ERM, Hyrax e Haas, através da liberação de óxido nítrico e de cortisol na saliva. Características ortodônticas e demográficas de dezesseis pacientes com 11 anos e 6 meses de idade ($\pm 1,95$) foram coletadas em um exame clínico odontológico. Os participantes foram divididos em dois grupos de acordo com o tipo de aparelho expansor usado: G1 – Hyrax (n=9) e G2 – Haas (n=7). Cinco amostras de saliva foram coletadas: antes de instalar o aparelho expansor (T1), 25 minutos após a primeira ativação do aparelho (T2), sete dias após a instalação do aparelho; logo na chegada do paciente na clínica (T3) e 25 minutos após a ativação realizada neste dia (T4) e um mês após a última ativação do aparelho expansor (T5). As amostras de saliva foram analisadas utilizando um kit imunoensaio e pelo método colorimétrico de Griess para detecção do cortisol e do NO, respectivamente. Foi realizada uma análise descritiva da condição ortodôntica dos participantes e os testes Qui-quadrado, *Mann-Whitney* e *Friedman* seguido por *Wilcoxon* foram usados para análise estatística. $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Nossos resultados demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre G1 e G2 em relação aos níveis de cortisol e óxido nítrico em todos os momentos de coleta ($p > 0,05$). Em G2, o nível de cortisol salivar foi significativamente menor em T2 comparado com T1 ($p = 0,01$), T3 ($p = 0,02$) e T4 ($p = 0,05$) e significativamente menor em T5 comparado com T1 ($p = 0,04$) e T3 ($p = 0,02$). O nível de óxido nítrico foi significativamente maior em T1 comparado com T3 ($p = 0,01$) e T4 ($p = 0,04$). Em G1, não houveram diferenças significantes entre os momentos de coleta. Podemos concluir que o momento que antecede o atendimento odontológico é mais estressante que o procedimento odontológico em si. Além disso, a inflamação causada durante a ERM pode estar mais relacionada a higiene oral do paciente.

Palavras-chave; Biomarcadores. Ortodontia. Estresse fisiológico. Hidrocortisona. Técnica de expansão palatina. Óxido nítrico.

ABSTRACT

The rapid maxillary expansion (RME) is a technique used for treatment of malocclusions due to maxillary atresia. Nitric oxide (NO) and cortisol are biologic markers found on saliva for evaluation of inflammation and stress, respectively, which can be caused by orthodontic treatment. This study aimed to compare two kinds of expanders used on RME, Hyrax and Haas, through the releasing of nitric oxide and cortisol on saliva. Orthodontics and demographic characteristics of sixteen patients with 11 years and 6 months age (± 1.95) were collected during a dental examination. The participants were divided into two groups according to the expander used: G1 – Hyrax (n=9) and G2 – Haas (n=7). Five saliva samples were collected: before expander placement (T1), 25 minutes after its first activation (T2), seven days after the expander placement; just patient's arrival at clinic (T3) and 25 minutes after the activation performed at this day (T4) and one month after the last activation of the expander (T5). The saliva samples were analysed using a kit immunoassay and the Griess method to detect cortisol and NO, respectively. A descriptive analyze of the patient's orthodontic condition were performed and Qui-square, Mann-Whitney and Friedman followed by Wilcoxon tests were used for statistical analysis. $P < 0.05$ was considered statistically significant. There was no difference between G1 and G2 regarding cortisol and NO at all collection times ($p > 0.05$). In G2, the level of salivary cortisol was statistically significant lower in T2 compared to T1 ($p = 0.01$), T3 ($p = 0.02$) and T4 ($p = 0.05$) and lower in T5 compared to T1 ($p = 0.04$) and T3 ($p = 0.02$). The level of nitric oxide was significantly higher in T1 compared to T3 ($p = 0.01$) and T4 ($p = 0.04$). In G1, there was no difference statistically significant among the collection times. To conclude, at the waiting room before the consultation is more stressful than the procedure itself. Also, the inflammation caused during the RME could be more related to the patients' oral hygiene.

Keywords: Biomarkers. Orthodontics. Stress, Physiological. Hydrocortisone. Palatal expansion technique. Nitric Oxide.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 -	Estudos clínicos que avaliaram óxido nítrico ou cortisol na saliva de pacientes durante o tratamento ortodôntico.....	17
Figura 1 -	Aparelho disjuntor de Haas.....	23
Figura 2 -	Aparelho disjuntor de Hyrax.....	23
Figura 3 -	Fluxograma das etapas realizadas no estudo.....	25
Figura 4 -	A)Níveis de cortisol salivar e B) níveis de óxido nítrico nos diferentes momentos da coleta durante a utilização dos aparelhos de Haas e Hyrax.....	30
Tabela 1 -	Comparação entre Hyrax e Haas em relação as características demográfica e ortodôntica dos pacientes.....	29
Tabela 2 -	Mediana e média interquartil dos níveis de cortisol e óxido nítrico salivares nos diferentes momentos da coleta.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEP	– Comitê de ética em pesquisa
ERM	– Expansão rápida da maxila
eNOS	– Óxido nítrico sintase-endotelial
FOUFG	– Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás
HHa	– Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
iNOS	– Óxido nítrico sintase induzível
NaNO ₂	– Nitrito de sódio
NO	– Óxido Nítrico
TCLE	– Termo de consentimento livre e esclarecido
TMB	– Solução substrato
UNIFAL-MG	– Universidade Federal de Alfenas - MG

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	09
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1	EXPANSÃO RÁPIDA DA MAXILA (ERM).....	12
2.2	MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ERM.....	13
3	OBJETIVOS.....	19
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1	ASPECTOS ÉTICOS.....	20
4.2	DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	21
4.3	PARTICIPANTES.....	21
4.4	PROCEDIMENTOS CLÍNICOS PARA COLETA DE DADOS E DAS AMOSTRAS DE SALIVA.....	21
4.4.1	Primeira Consulta.....	21
4.4.2	Segunda Consulta.....	22
4.4.3	Terceira Consulta.....	23
4.4.4	Quarta consulta – 07 dias após a instalação do aparelho.....	24
4.4.5	Quinta consulta – 30 dias após a última ativação do aparelho.....	24
4.4.6	Sexta consulta – consulta final	24
4.5	PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS.....	26
4.5.1	Análise do cortisol salivar.....	26
4.5.2	Análise do óxido nítrico salivar.....	27
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	27
5	RESULTADO.....	28
6	DISCUSSÃO.....	32
7	CONCLUSÃO.....	34
	REFERÊNCIAS.....	35
	APÊNDICES.....	41
	ANEXOS.....	46

1 INTRODUÇÃO

A expansão rápida da maxila (ERM) é um procedimento ortodôntico indicado para tratamento da atresia maxilar em pacientes que ainda não estão com a sutura palatina mediana totalmente fechada (ANGELL, 1860). Tal procedimento visa um posicionamento lateral mais adequado das maxilas a fim de proporcionar uma melhor oclusão dentária (WERTZ, 1970; SILVA FILHO, et al., 1989).

Relatos dão conta de que tal conduta teve seu início em 1860 nos Estados Unidos, no entanto, a mesma só veio a ser mundialmente difundida por volta de 1960 após inúmeras pesquisas, realizadas por Haas, tanto em animais como em humanos (CAPELOZZA FILHO; SILVA FILHO, 1997; HAAS, 1973). Este procedimento é muito utilizado tendo em vista seus resultados satisfatórios clinicamente e em nível de pesquisa quando se comparam os aparelhos ortopédicos utilizados para tal procedimento (CAPELLOZZA FILHO; SILVA FILHO, 1997).

Se realizado na faixa etária adequada, pode-se lançar mão de um dos três aparelhos mais utilizados: Haas, Hyrax ou Macnamara (ALMEIDA; ALMEIDA, 2008). O mecanismo de ação deste tipo de aparelho é através da produção de forças de grande magnitude, podendo chegar a 3.500 gramas, por meio da ativação do parafuso que se encontra nos aparelhos (ISAACSON; INGRAM, 1964).

A diferença entre os três aparelhos supracitados é a presença ou não de uma parte acrílica. Haas (1970) preconizou seu aparelho contendo duas placas de acrílico que se encaixam no palato do paciente sendo classificado assim como muco-suportado; a ausência destas placas de acrílico no aparelho de Hyrax o classifica como um aparelho dento-suportado. Já o aparelho de Macnamara mesmo possuindo duas partes acrílicas encapsulando os dentes posteriores, é classificado também como muco-suportado (BIEDERMAN, 1968). Uma das vantagens do aparelho de Haas, devido à parte acrílica, é a maior distribuição das forças de ativação do parafuso, oferecendo menor risco de lesões ósseas e mucosas. Por outro lado, o aparelho de Hyrax, por não conter a porção acrílica, permite uma melhor higienização. Já Macnamara preocupado com o controle vertical dos dentes posteriores, desenvolveu um aparelho semelhante ao de Hyrax porém, com uma parte acrílica encapsulando os dentes posteriores (BIEDERMAN, 1968). Contudo, não se observam diferenças significativas quando comparados os efeitos dentais e esqueléticos em pacientes que usaram os disjuntores Haas, Hyrax ou Macnamara (MAZZIEIRO; HENRIQUES; FREITAS, 1996; KAWAKAMI et al., 1999).

Sendo assim, a literatura é controversa quanto à indicação do melhor dispositivo ortopédico a ser utilizado na ERM. Estudos indicam o uso de determinado aparelho levando em consideração os resultados obtidos na avaliação de diversos parâmetros, tais como: tomografias, análises cefalométricas e/ou biomarcadores salivares (GARIB et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2004; GECGELEN et al., 2012).

O óxido nítrico (NO) é um marcador biológico que pode também ser encontrado na saliva para avaliação do tratamento ortodôntico (HAYASHI et al., 2002). Sua concentração pode determinar o grau de inflamação tecidual que está ocorrendo, além de atuar como um importante regulador na formação e reabsorção óssea (HAYASHI et al., 2002). Por outro lado, a alta liberação do NO pode ser um dos responsáveis por causar grandes danos celulares, como inflamação e necrose, conhecidos como estresse oxidativo (KENDALL; MARSHALL; BARTOLD, 2001).

O cortisol, o principal hormônio glicocorticóide liberado pelo córtex adrenal frente a uma situação estressante, seja esta psicológica, física ou ambiental, também é um marcador biológico usado para avaliar o tratamento ortodôntico (HILL; WALKER, 2001; GECGELEN et al., 2012). A sua liberação atinge o pico no plasma sanguíneo em torno de 15 a 30 minutos após o estímulo estressante e, logo em seguida, ocorre o pico de liberação deste hormônio na saliva (GUNNAR; WHITE, 2001; HANRAHAN et al., 2006).

Sendo assim, a avaliação dos biomarcadores fisiológicos encontrados na saliva, como o NO e o cortisol, por serem medidas biológicas objetivas para se avaliar o estresse fisiológico e a inflamação causada pelos aparelhos utilizados para ERM, poderá complementar informações quanto à escolha do tipo de aparelho para cada paciente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A mordida cruzada posterior é uma alteração ortodôntica encontrada quando as cúspides vestibulares dos dentes posteriores superiores ocluem mais lingualizados com as cúspides vestibulares dos dentes inferiores, (BINDER, 2004). A prevalência dessa deficiência na oclusão dentária varia de 7,3% a 9,6% e pode ser devida ao posicionamento dentário, ao crescimento alveolar ou a uma grave discrepância entre a maxila e a mandíbula (BINDER, 2004; MODESTI, 2013).

A mordida cruzada posterior está presente na maioria dos pacientes respiradores bucais, tendo em vista a influência direta que os músculos peribucais e mastigadores promovem sobre a maxila, fazendo com que a mesma desenvolva algumas alterações, como por exemplo: arcada estreita, palato ogival, protrusão incisiva, entre outras características. Pacientes respiradores bucais têm a capacidade respiratória afetada em cerca de 30%. Diante disso, o sucesso no tratamento da mordida cruzada posterior pode restabelecer o equilíbrio morfo-funcional do paciente e melhorar a capacidade respiratória (SOLIVA, 1998).

O conhecimento do crescimento e desenvolvimento ósseo facial do indivíduo é imprescindível no auxílio para o diagnóstico e tratamento ortodôntico-ortopédico, em especial nos casos em que há uma discrepância transversal da maxila como é a mordida cruzada posterior (PRATA, 2001).

A mordida cruzada posterior pode ser classificada como unilateral ou bilateral. Para um correto diagnóstico basta manipular a mandíbula em relação cêntrica e observar se a constrição do arco é apenas de um lado (mordida cruzada unilateral), ou se a constrição do arco acomete os dois lados (mordida cruzada bilateral) (WEISSHEIMER et al, 2011).

O correto diagnóstico da mordida cruzada posterior deve ser realizado com um exame clínico dentário minucioso a fim de planejar o tratamento e o momento adequado de intervir, podendo-se lançar mão de aparelhos fixos ou removíveis. Dentre os aparelhos fixos, existem aqueles que tratam a mordida cruzada através da movimentação dentoalveolar, que são os quadri-hélices, e os aparelhos que provocam a ERM, que são o Hyrax , Haas e Mcnamara (BINDER, 2004).

Os aparelhos utilizados para a ERM produzem o mesmo efeito na sutura mediana da maxila (WEISSHEIMER et al., 2011). No entanto, a diferença entre os aparelhos é a presença

de uma parte acrílica palatal no aparelho de Haas, o que o caracteriza como um aparelho dento-muco-suportado, uma parte acrílica encapsulando os dentes posteriores no aparelho de Mcnamara e o aparelho de Hyrax que não apresenta nenhuma parte acrílica, sendo classificado os dois últimos como dento-suportado (BIEDERMAN, 1968; HAAS, 1970).

2.1 EXPANSÃO RÁPIDA DA MAXILA (ERM)

Em 1860, Angell chocou a comunidade odontológica ao mostrar que as maxilas poderiam ser abertas através de um aparelho preso aos dentes. Para comprovar tal fato, ele demonstrou o método em um paciente de 14 anos, do sexo feminino, utilizando um dispositivo com um parafuso posicionado transversalmente à abóboda palatina. Este parafuso foi ativado durante duas semanas e foram observadas algumas alterações, tais como: surgimento de diastemas entre os incisivos centrais superiores, abertura da sutura palatina mediana e aumento no perímetro do arco superior (ANGELL, 1860 apud TAVARES, 1999).

Este procedimento é chamado de expansão rápida da maxila (ERM), a qual tem o objetivo de aumentar a dimensão vertical da maxila através da ativação dos aparelhos Hyrax ou Haas com a utilização de forças laterais nos dentes superiores posteriores (TOWNEND, 1980). Baratieri et al. (2014) relata que essa técnica é indicada no tratamento de maloclusões decorrentes da deficiência de crescimento transversal da maxila, já Hilgers et al (2011) indica a técnica em problemas relacionados com o comprimento do arco e, Izuca; Feres; Pignatari (2015), dizem ser um tratamento auxiliar para promover melhora na capacidade respiratória de pacientes com problemas respiratórios crônicos. Pacientes relataram, em estudos realizados por Haas, ausência de dor com uma leve pressão nos dentes e na abóboda palatina. Foi possível constatar, durante a ativação do aparelho, alteração nas dimensões da cavidade nasal, distâncias intermolares e interincisivos, diastema entre os incisivos centrais superiores, vestibularização dos dentes posteriores inferiores, devido às novas forças oclusais, e alteração no equilíbrio muscular (HAAS, 1961).

2.2 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ERM

A ERM é uma das técnicas mais utilizadas pelos ortodontistas, podendo a mesma ser avaliada através de radiografias, tomografias computadorizadas, análises cefalométricas e, atualmente, os biomarcadores salivares.

Tavares et al. (1999), utilizando radiografias digitais, realizaram um estudo com 10 pacientes com idade entre 8 e 12 anos, a fim de avaliar se 90 dias era um período de contenção suficiente para que a sutura palatina mediana não voltasse ao seu aspecto original após a ERM. Após 90 dias, concluíram que o período não tinha sido suficiente para uma total mineralização, ou seja, a sutura palatina mediana não tinha recuperado seu aspecto radiográfico normal durante o período estudado.

Garib et al. (2005), com o objetivo de avaliar os efeitos dentoesceléticos da ERM utilizando a tomografia computadorizada, avaliaram 8 meninas com idade entre 11 e 14 anos portadoras de má-oclusão classe I ou II com mordida cruzada uni ou bilateral. As meninas foram divididas aleatoriamente em dois grupos, conforme o aparelho expensor utilizado (Haas ou Hyrax). Os resultados mostraram que o aparelho de Haas produziu uma maior inclinação axial nos dentes onde o aparelho estava apoiado do que o aparelho de Hyrax.

Albuquerque e Eto (2006) promoveram um estudo com 19 pacientes com idade entre 10 e 28 anos objetivando determinar se era possível prever se o sucesso da ERM estaria relacionado com a maturação esquelética. Para isso, eles fizeram 38 radiografias oclusais sendo essas feitas antes da cimentação dos disjuntores e após a fase final de ativação. Para determinar a idade esquelética desses pacientes, foram feitas radiografias de mão e punho, enquanto que para determinar a abertura da sutura palatina mediana foi avaliada a presença de diastema entre os incisivos superiores. Concluíram que não é possível prever o sucesso da expansão rápida da maxila com base no estágio de maturação esquelética, ficando a sugestão de que um novo estudo com uma amostra maior fosse feito.

Silva Filho et al. (2007), utilizando o aparelho expensor de Haas, realizaram um estudo com 17 crianças com idades entre 5 a 10 anos objetivando avaliar, através da tomografia computadorizada, a ossificação da sutura palatina mediana. As ativações do aparelho expensor foram realizadas até que fosse obtido uma boa anatomia do arco superior, após isso seguiu-se um período de contenção de 8 a 9 meses. As tomografias foram realizadas em 3 etapas: antes da expansão, após a fase ativa da expansão e após a fase de contenção. Após o estudo das tomografias, chegaram a conclusão de que a sutura palatina mediana, após

o período de 8 a 9 meses de contenção, apresentava-se inteiramente ossificada na totalidade das crianças participantes do estudo.

Baratieri et al. (2010), com o objetivo de avaliar os efeitos transversais dentários e esqueléticos provocados pela ERM, através de tomográficas computadorizadas, realizaram um estudo com 17 crianças, sendo 8 meninos e 9 meninas com idade média de 10,6 anos. Todas as crianças eram portadoras da maloclusão de Classe II, divisão 1 e foram submetidas à expansão até que a face palatina dos molares superiores tocassem a face vestibular dos molares inferiores quando a mandíbula fosse projetada. Foram realizadas tomografias computadorizadas em 3 diferentes momentos: antes das ativações, após a estabilização do aparelho expensor e 6 meses após essa estabilização, momento também utilizado para a remoção do aparelho. Após medições e estudos das tomografias, concluíram então que, a dimensão transversal esquelética e dentária tinha aumentado significativamente e que o período de 6 meses de contenção tinha sido satisfatório para que esse ganho fosse mantida.

Weissheimer et al. (2011) conduziram um ensaio clínico cujo objetivo foi avaliar os efeitos imediatos da expansão rápida da maxila no plano transversal utilizando tomografia computadorizada. Para essa pesquisa, foram selecionados 33 indivíduos com idade média de 10,7 anos, divididos em 2 grupos: indivíduos submetidos a ERM com o aparelho de Haas (n=18) e indivíduos submetidos a ERM com o aparelho de Hyrax (n=15). Foram realizadas tomografias antes e depois da expansão. Observaram que ambos os aparelhos foram eficientes na correção da deficiência transversa maxilar. No entanto, a expansão esquelética foi maior que a dentária, e o aparelho de Hyrax produziu maiores efeitos ortopédicos que o aparelho de Haas, sendo que esses efeitos foram menores que 0,5 mm, o que relataram não ser algo significativo clinicamente.

Façanha et al. (2014), com o objetivo de avaliar o efeito transversal da ERM, comparando os aparelhos de Haas e de Hyrax em pacientes com fissura labiopalatina completa e unilateral, promoveram expansão em 48 pacientes, divididos em 2 grupos: Grupo 1 - 25 pacientes receberam o aparelho de Haas, idade média de 10 anos e 8 meses; Grupo 2 - 23 pacientes receberam o aparelho de Hyrax, idade média de 10 anos e 6 meses. Foram feitas moldagens antes da expansão e após a remoção do expensor e, após a confecção dos modelos, os mesmos foram digitalizados com o auxílio de um scanner 3D. Após medições e estudos feitos com o auxílio de um software, concluíram que o procedimento produziu aumento significativo da dimensão transversal da arcada dentária superior, sem diferença significativa entre os dois aparelhos utilizados.

Melgaço et al. (2014), objetivando desenvolver um método para avaliar as mudanças

transversais palatinas e linguais em pacientes submetidos à ERM também avaliaram 31 pacientes divididos em 2 grupos: Grupo 1 - 17 pacientes foram tratados com o aparelho de Haas; Grupo 2 - 14 pacientes tratados com o aparelho de Hyrax, idade média de 12 anos e 10 meses para meninas e 13 anos para meninos. Tomografias computadorizadas foram realizadas antes da expansão e seis meses após a estabilização do parafuso expensor. A conclusão deste estudo foi um aumento significativo nas áreas transversais avaliadas bem como na oclusal da mandíbula após realizar ERM. Porém, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os aparelhos de Haas e de Hyrax.

Devido as vantagens da análise salivar comparado ao sangue, bem como da variedade de moléculas biológicas que a saliva apresenta, a sua pesquisa como um fluido de diagnóstico e prognóstico de doenças orais e sistêmicas tem ganhado destaque na literatura científica (STRECKFUS; BIGLER, 2002; LIMA et al., 2010). É um método fácil, simples, pode ser realizado pelo paciente ou responsável, não invasivo e indolor, mais fácil e barato para ser armazenado, além de refletir a dosagem plasmática das moléculas a serem pesquisadas.

A saliva é conhecida como o “espelho do corpo” por refletir as condições normais e o estado de doença do indivíduo, sendo portanto, uma medida fisiológica objetiva (LIMA et al., 2010). Os biomarcadores salivares têm sido investigados na detecção e acompanhamento de doenças infecciosas, neoplasias malignas, análises hormonais e forenses, bem como em diversas situações em odontologia (RODRIGUES GOMES; BARRETOBEZERRA; MAIA PRADO, 2013; YFANTI et al., 2014; GOMES et al., 2015; GOMES et al., 2016; CURCIO et al., 2017).

Diante um estímulo estressante, ocorre a ativação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA), o que resulta na secreção aumentada do cortisol na corrente sanguínea (KAMBALIMATH; DIXIT; THYAGI, 2010). O cortisol é um hormônio que pode ser encontrado na saliva devido à difusão do cortisol livre do plasma (DOS SANTOS et al., 2012). Dessa forma, ele é um biomarcador salivar para detecção de doenças que têm a função endócrina envolvida, bem como para avaliação de estresse em pacientes durante o tratamento odontológico (KIRSCHBAUM; HELHAMMER.,1994; AKYUZ; PINCE; HEKIN, 1996; RAI et al., 2010; GOMES et al., 2016).

O óxido nítrico (NO) é uma molécula mensageira sintetizada em vários locais do organismo, incluindo as glândulas salivares (SOINILA; NUORVA; SOINILA, 2006). Suas ações envolvem efeito antimicrobiano, ação vasodilatadora, efeito antioxidativo, além de atuar no processo de estresse oxidativo (LUNDEBERG; WEITZBERG; GLADWIN, 2008; AVEZOV; REZNICK; AIZENBUD, 2015). Na odontologia, atua como um biomarcador

fisiológico encontrado na saliva através de sua produção pela NO sintase, avaliação da atividade de cárie, processo antiinflamatório da doença periodontal , bem como para detecção de estresse oxidativo e inflamação na aplicação de forças durante o uso de aparelhos ortodônticos (SOINILA; NUORVA,2006; SYED; SACHDEV; CHOPRA, 2016; BATISTA et al., 2002; TAN et al., 2009; ATUG OZCAN et al., 2014; FORD et al., 2014).

Estudos clínicos têm sido desenvolvidos para avaliação do tratamento ortodôntico em relação ao melhor custo-benefício para o paciente. Para isso, a investigação de biomarcadores salivares tem ganhado destaque nessa área pelas vantagens que este método apresenta bem como pela objetividade desta medida fisiológica. O quadro 1 apresenta estudos clínicos que avaliaram o nível de NO e cortisol como biomarcadores salivares durante o tratamento ortodôntico.

Quadro 1. Estudos clínicos que avaliaram óxido nítrico ou cortisol na saliva de pacientes durante o tratamento ortodôntico.

Autor, data	Participantes/ Idade	Tratamento	Biomarcador avaliado. Amostra coletada	Conclusões
D'Attilio et al., 2004	15 pacientes, idade média 17, 4 anos.	Extração de 4 primeiros pré-molares para tratamento ortodôntico e gengivectomia	Óxido nítrico. Saliva	Há um papel das óxido nítrico sintase-endotelial (eNOS) e óxido nítrico sintase induzível (iNOS) gengivais na fase inicial do tratamento ortodôntico.
Gecgelen et al., 2012	40 crianças 10-14 anos.	Expansão rápida da maxila.	Cortisol salivar. Saliva	Os níveis de cortisol salivar foram maiores no dia da expansão rápida da maxila.
Ford et al., 2014	13 pacientes do sexo masculino. 11-18 anos.	Tratamento ortodôntico fixo, sem necessidade de exodontia.	Óxido nítrico. Fluido crevicular gengival	O NO desempenha um papel na movimentação ortodôntica nos lados de pressão dos incisivos em estágio inicial do tratamento.
Atug Ozcan et al., 2014	50 pacientes.	Tratamento ortodôntico com aparelho fixo.	Óxido nítrico. Fluido crevicular gengival	O tratamento ortodôntico não causou mudanças no estresse oxidativo em ambos, saliva e fluido.
Amato et al., 2015	108 crianças 7-9 anos.	As crianças foram classificadas de acordo com a necessidade de tratamento ortodôntico, mas não recebeu nenhum tratamento odontológico.	Cortisol salivar. Saliva	Crianças asmáticas apresentam maior nível de cortisol salivar no final de semana.

Fonte: Do autor

Portanto, embora haja evidência científica comprovando a eficácia de ambos os aparelhos, não são encontrados trabalhos na literatura que comprove sua eficiência em relação a: custo, percepção e liberação de biomarcadores salivares, tornando assim, esse trabalho relevante a fim de complementar a literatura científica quanto ao aparelho que trará mais benefícios para o paciente com atresia maxilar.

3 OBJETIVOS

Avaliar os níveis de óxido nítrico (NO) e cortisol na saliva de crianças durante o uso dos aparelhos de Hyrax e de Haas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada na Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL – MG), em colaboração com a Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás (FOUFG) e com o Instituto Marcelo Pedreira de Alfenas – MG.

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

Esta pesquisa seguiu os preceitos da Resolução CNS/MS 466/2012 e foi aprovada pelo

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) (número do parecer 1.854.338 –Anexo A).

Em uma consulta de triagem (recrutamento), um dentista verificava se a criança contemplava os critérios de inclusão. Em caso afirmativo, o responsável legal pela criança era convidado a participar da pesquisa; se o responsável não aceitasse ou caso a criança não contemplasse os critérios de inclusão, a criança não era recrutada para a pesquisa, mas era normalmente atendida no Instituto Marcelo Pedreira.

O processo de obtenção do consentimento dos responsáveis foi realizado por um dos membros da equipe da pesquisa que explicou do que se tratava o estudo. Em seguida, o pesquisador lia conjuntamente com o responsável o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice A). Os responsáveis legais pelas crianças eram esclarecidos sobre a natureza da pesquisa, objetivos, métodos, benefícios, riscos e incômodos. Após a leitura do TCLE, caso consentisse que a criança participasse do estudo, seu responsável legal era solicitado a assinar o termo.

Além do TCLE, foi coletado o assentimento livre e esclarecido da criança (Apêndice B), uma vez que eram pacientes com idade adequada para o entendimento e compreensão do estudo.

4.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Este estudo clínico observacional avaliou 2 (dois) tipos de aparelhos usados para ERM em relação ao estresse fisiológico e à inflamação. Sendo assim, as crianças selecionadas para o estudo foram divididas em 2 (dois) grupos experimentais:

- a) Expansores Maxilares do tipo Hyrax
- b) Expansores Maxilares do tipo Haas

4.3 PARTICIPANTES

A população deste estudo consistiu de crianças que procuraram tratamento ortodôntico no Instituto Marcelo Pedreira, localizado no município de Alfenas, estado de Minas Gerais. A amostragem foi por conveniência, ou seja, todas as crianças que tiveram necessidade de ERM com o uso de aparelhos de Hyrax ou de Haas.

Foram incluídos indivíduos com idade entre 6 e 15 anos, que apresentavam atresia maxilar e/ou mordida cruzada posterior. Os critérios de exclusão foram: crianças que faziam uso de medicamentos contínuos ou que apresentavam higiene bucal ruim (placa), doença periodontal (sangramento gengival) ou cárie dentária.

4.4 PROCEDIMENTOS CLÍNICOS PARA COLETA DE DADOS E DAS AMOSTRAS DE SALIVA

Este estudo compreendeu seis consultas odontológicas, conforme descrito abaixo.

4.4.1 Primeira Consulta

Após a seleção dos pacientes e assinatura do TCLE e do termo de assentimento, cada uma das crianças recebeu um exame odontológico-ortodôntico completo para registrar suas características e necessidades odontológicas. O exame foi realizado por um cirurgião-dentista especialista em ortodontia e as seguintes informações foram anotadas em formulário próprio (Apêndice C): overjet e overbite (normal 0 a 2 mm/aumentado > 2mm), mordida (normal, cruzada anterior ou posterior), selamento labial (sim/não), tipo de respiração, utilizado o método do espelho (nasal, bucal, mista), classificação da oclusão segundo Angle, tipo facial (braquifacial, mesocefal, dolicocefal), forma da arcada superior e inferior, utilizado o diagrama de Interlandi (normal, atrésica, expandida).

Ao final da consulta, cada criança foi agendada para uma próxima consulta, de acordo com a disponibilidade do responsável. Foram solicitados exames radiográficos complementares (radiografia panorâmica e telerradiografia) para o planejamento do tratamento odontológico, conforme a necessidade.

4.4.2 Segunda Consulta

Durante a segunda consulta, realizou-se a moldagem do arco superior para a confecção dos aparelhos ortopédicos utilizando moldeiras do tamanho específico para cada paciente, da marca Morelli. O material de moldagem foi o alginato Jeltrate Plus (Dentsply, Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil), manipulado de acordo com a instrução do fabricante. As moldagens foram encaminhadas para especialistas protéticos para a confecção dos aparelhos expansores de Hyrax ou de Haas, conforme a indicação do ortodontista responsável por seu tratamento.

Os participantes foram dispensados e remarcadas dentro de 30 (trinta) dias, sendo informadas que receberiam o aparelho na consulta seguinte.

A confecção dos aparelhos seguiu o protocolo estabelecido pelos seus idealizadores sendo esses: disjuntor de Haas (figura 1) composto por 4 bandas sendo essas posicionadas nos 1º pré-molares e nos 1º molares superiores, fios de 1 mm de espessura soldados nas bandas por vestibular e por palatino, parte acrílica apoiada no palato e um parafuso expensor de 11mm de abertura. O disjuntor de Hyrax (figura 2) foi confeccionado com 4 bandas posicionadas também nos 1º pré-molares e 1º molares superiores, fios de 1 mm de espessura soldados nas bandas por vestibular e palatino e um parafuso expensor de 11 mm de abertura

igualmente soldado nas bandas.



Figura 1: Aparelho disjuntor de Haas

Fonte: TAVARES (1999, p. 14).

Figura 2: Aparelho disjuntor de Hyrax

Fonte: Google Imagens

4.4.3 Terceira Consulta

Na terceira consulta, assim que o participante chegava na clínica para ser atendida, era realizada a primeira coleta de saliva (T1). Para a coleta das amostras de saliva, o profissional, com as mãos enluvasadas, posicionava um rolete de algodão estéril na boca do paciente até sua embebição com saliva. Em seguida, o rolete de algodão era colocado em um tubo Salivette (*Sarstedt Inc., Nümbrecht, Alemanha*), e o conjunto armazenado em uma caixa térmica contendo gelo até ser levado ao laboratório para centrifugação.

Posteriormente, o aparelho foi instalado, sendo as bandas cimentadas com cimento de ionômero de vidro para cimentação Vidrion C (*SS WHITE, Rio de Janeiro, Brasil*), o qual foi manipulado de acordo com as orientações do fabricante.

Após a instalação, o aparelho foi ativado conforme os protocolos pré-estabelecidos (HAAS, 1961): 4 (quatro) ativações iniciais (totalizando 1 mm de abertura) realizadas pelo

profissional e 2 (dois) ativações diárias (totalizando 0.5mm de abertura) durante 7 (sete) dias, as quais deveriam ser realizadas pelos pais ou responsáveis, com exceção da última. Esta deveria ser realizada pelo ortodontista durante sua consulta de retorno. Os pais ou responsáveis foram orientados sobre a correta ativação (modo, período e quantidade de ativação), cuidados a serem tomados durante o procedimento e higienização. Estas informações foram detalhadamente repassadas por escrito aos responsáveis (Apêndice D).

Vinte e cinco minutos após a primeira ativação, realizou-se a segunda coleta de saliva (T2), da mesma maneira que a anterior. O paciente foi, então, dispensado e seu retorno agendado para 7 (sete) dias após.

4.4.4 Quarta consulta – 07 dias após a instalação do aparelho

No sétimo dia de utilização do aparelho, o paciente retornava ao consultório odontológico para que a ativação final fosse realizada pelo profissional. Novamente, foram realizadas coletas de saliva imediatamente antes da ativação (T3), e outra coleta 25 minutos após esta ativação (T4).

Nesta etapa, foi realizada uma avaliação ortodôntica do paciente com a finalidade de diagnosticar se a ERM tinha sido suficiente para a correção da atresia maxilar e mordida cruzada posterior. Constatada que a ERM tinha sido satisfatória, o aparelho disjuntor em questão era estabilizado com fio de amarrilho 0.30 da marca Morelli, ficando desta forma até o dia de remoção do mesmo.

Pacientes cujas ativações não foram satisfatórias, ou seja, a ERM não foi suficiente para a total correção do problema inicialmente diagnosticado, foram propostas mais ativações de acordo com a necessidade de cada paciente. Ao final dessas ativação, o aparelho foi estabilizado conforme descrito anteriormente.

4.4.5 Quinta consulta – trinta dias após a estabilização do aparelho

Trinta dias após a estabilização do aparelho, o paciente era submetido a uma nova avaliação para acompanhamento, sendo realizado nova coleta de saliva assim que a criança chegava na clínica (T5).

4.4.6 Sexta consulta – consulta final

Após 5 meses, foi feita uma radiografia oclusal superior do paciente e, constatada a formação óssea na região da sutura palatina mediana, era realizado a remoção do aparelho do paciente e, assim, finalizado seu tratamento ortodôntico.

As etapas desenvolvidas neste estudo, conforme descritas anteriormente, podem ser vistas na Figura 1.

Recrutamento: Crianças que procuram
tratamento ortodôntico no Instituto
Marcelo Pedreira

Figura 3: Fluxograma das etapas realizadas no estudo.
Fonte: Do autor

4.5 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

Após cada uma das coletas das amostras de saliva, os tubos foram centrifugados a 3000 rpm por 15 minutos. Posteriormente, os roletes de algodão foram removidos e a saliva transferida com o uso de ponteiros descartáveis para tubos de microcentrífuga. Estes foram congelados em freezer a -80°C (SANYO/ VIP® PLUS™, USA) até o momento das análises do cortisol e NO salivares. Estas foram realizadas após a coleta das 5 (cinco) mostras de todos os participantes da pesquisa.

4.5.1 Análise do cortisol salivar

A análise laboratorial para medir o cortisol nas amostras de saliva foi realizada por um ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando o *Salimetrics® Cortisol Enzyme Immunoassay Kit* (Salimetrics, LLC, Carlsbad, EUA), cujo limite de detecção é de 3000 $\mu\text{g/dL}$ a 0,012 $\mu\text{g/dL}$. As etapas do ensaio foram realizadas conforme as instruções do fabricante, as quais foram descritas brevemente abaixo (Anexo A).

O ensaio segue o princípio básico de enzima imunoensaio onde existe uma competição entre um antígeno não marcado e um antígeno marcado com enzima, por um número determinado de sítios de ligação no anticorpo. A quantidade de antígeno marcado com enzima é inversamente proporcional à concentração do analítico presente não marcado. O material não ligado é removido por decantação e lavagem das cavidades.

Todos os reagentes e as diluições seriadas da proteína cortisol padrão foram preparados de acordo com as instruções do fabricante. Vinte e cinco μL das diluições seriadas do cortisol e de cada uma das amostras foram colocados em cada poço de uma placa de 96 poços e, em seguida, adicionados 200 μL da solução conjugada diluída a 1:1600. A placa foi centrifugada a 500 rpm, durante 5 minutos, e incubada em temperatura ambiente durante 55 minutos. Os poços foram lavados 4 vezes com 300 μL do tampão de lavagem. Adicionaram-se 200 μL da solução substrato (TMB) em cada poço, sendo a placa novamente centrifugada a 500 rpm, durante 5 minutos e incubada por 25 minutos protegida da luz. Adicionaram-se então 50 μL da solução stop em cada poço para parar a reação. A placa foi centrifugada a 500 rpm, durante 3 minutos. A densidade óptica foi determinada imediatamente em

espectrofotômetro (*Molecular Devices; Spectra Max 190, USA*) com comprimento de onda de 450 nm.

4.5.2 Análise do óxido nítrico salivar

A concentração de nitrito na saliva foi mensurada pelo método colorimétrico de Griess. O reagente de Griess é uma mistura 1:1 de 1% de sulfanilamida (*Reagen; Colombo; Paraná; Brasil*) e 0,1% de naftiletilenodiamino-bicloridrato (*Vetec*) em ácido ortofosfórico (H_3PO_4) a 5% (*Vetec*). As amostras de saliva (50 μ l) foram transferidas para uma placa de 96 poços. O mesmo volume (50 μ l) do reagente de Griess foi adicionado em cada poço. Após 10 minutos, a densidade óptica foi medida em espectrofotômetro (*Molecular Devices; Spectra Max 190, USA*), com comprimento de onda de 570 nm. As concentrações de nitrito foram calculadas a partir de uma curva padrão realizada com uma solução de nitrito de sódio ($NaNO_2$) em PBS (pH 7,2), expressos em μ M.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados e analisados utilizando-se o programa *Statistical Package for Social Sciences (SPSS for Windows, versão 23.0 SPSS Inc. Chicago, IL, EUA)* e o *software Prism (GraphPad Prism 6)*. As variáveis dependentes ou resposta foram o nível de cortisol salivar e o nível de óxido nítrico de cada participante, enquanto que as variáveis independentes foram a idade da criança no momento da consulta inicial, sexo, tempo necessário para ativação do aparelho e tipo de aparelho utilizado.

Realizou-se análise descritiva, bem como análise estatística utilizando-se o teste *Shapiro-Wilk*, aplicado para avaliar a distribuição normal das variáveis quantitativas (cortisol e óxido nítrico), a qual não foi confirmada. Dessa forma, os dados não paramétricos foram utilizados para análise estatística. O teste de *Mann-Whitney* foi usado para comparar os aparelhos de Haas e Hyrax e os testes de *Friedman* seguido de *Wilcoxon* foram utilizados para comparar os momentos de coleta durante o uso de ambos os aparelhos. Foi adotado como nível de significância para os testes estatísticos aplicado um valor de 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

Os resultados apresentados referem-se aos dados obtidos no período de Julho/2017 a Março/2018. Trinta crianças foram examinadas para verificação dos critérios de inclusão e apenas vinte contemplaram os critérios. Não houve nenhuma desistência e nem recusa dos representantes legais e das crianças em consentirem e assentirem, respectivamente, na participação da pesquisa. Quatro crianças foram excluídas das análises devido à quantidade insuficiente de saliva após a centrifugação para avaliar os biomarcadores salivares.

Entre as crianças participantes, 10 foram meninas (62,5%) e 6 meninos (37,5%), com média de idade de 11 anos e 6 meses. Nove crianças (56,2%) receberam o aparelho de Hyrax e sete (43,8%) receberam o aparelho de Haas. As demais características descritivas dos pacientes estão detalhadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Comparação entre Hyrax e Haas em relação as características demográfica e ortodôntica dos pacientes (n=16).

Características		Hyrax n (%)	Haas n (%)	Valor de p *
Gênero				
	Feminino	5 (55,6)	5 (71,4)	0,633 *
	Masculino	4 (44,4)	2 (28,6)	
Idade				
	8-10 anos	4 (50,0)	4 (50,0)	0,999 *
	11-15 anos	5 (62,5)	3 (37,5)	
Overjet				
	Normal	4 (44,4)	3 (42,9)	0,999 *
	Excessivo	5 (55,6)	4 (57,1)	
Overbite				
	Normal	6 (66,7)	4 (57,1)	0,999 *
	Profundo	3 (33,3)	3 (42,9)	
Mordida				
	Normal	2 (22,2)	2 (28,6)	0,999 *
	Cruzada anterior	0	0	
	Cruzada posterior	7 (77,8)	5 (71,4)	
Selamento labial				
	Sim	8 (88,9)	6 (85,7)	0,999 *
	Não	1 (11,1)	1 (14,3)	
Respiração				
	Nasal	1 (11,1)	0	0,470 **
	Bucal	3 (33,3)	2 (28,6)	
	Mista	5(55,6)	5 (71,4)	
Tipo de oclusão				
	Classe I	5 (55,6)	5 (71,4)	0,633 *
	Classe II – subdivisão 1	4 (44,4)	2 (28,6)	
Tipo facial				
	Braquifacial	2 (22,2)	2 (28,6)	0,999 *
	Mesofacial	7 (77,8)	5 (71,4)	
	Dolicofacial	0	0	
Forma arcada superior				
	Normal	1 (11,1)	0	0,999 *
	Atrésica	8 (88,9)	7 (100,0)	
	Expandida	0	0	
Forma arcada inferior				
	Normal	3 (33,3)	3 (42,9)	0,999 *
	Atrésica	6 (66,7)	4 (57,1)	
	Expandida	0	0	

*Teste de Fisher, **Teste Linear

Fonte: Do autor

A avaliação dos níveis de cortisol salivar e de óxido nítrico demonstrou que não houve diferença estatística quando comparados os aparelhos Hyrax e Haas (Teste *Mann-Whitney*, $p > 0,05$) (Figura 2 e Tabela 2).

A comparação, de modo pareado, entre os momentos de coleta, evidenciou redução do nível de cortisol salivar em T2 durante o uso de ambos os aparelhos. No entanto, com o aparelho de Haas, essa redução foi estatisticamente significativa comparado com T1 ($p = 0,01$), T3 ($p = 0,02$) e T4 ($p = 0,05$) (Figura 2 e Tabela 2). Além disso, houve uma redução significativa do nível de cortisol salivar em T5 comparado com T1 ($p = 0,04$) e com T3 ($p = 0,02$) (Figura 2 e Tabela 2). Não houve diferença estatisticamente significativa do nível de cortisol salivar entre os demais momentos de coleta para os usuários do aparelho de Haas e do aparelho Hyrax ($p > 0,05$, teste Wilcoxon) (Figura 2 e Tabela 2).

Em relação aos níveis de óxido nítrico, foi estatisticamente significativa maior em T1 durante o uso do aparelho de Haas comparado com T3 ($p = 0,01$) e T4 ($p = 0,04$). Não houve diferença estatisticamente significativa quando foram comparados os demais momentos de coleta para os pacientes que usaram Haas e para os pacientes que usaram Hyrax ($p > 0,05$, teste Wilcoxon) (Figura 2 e Tabela 2).

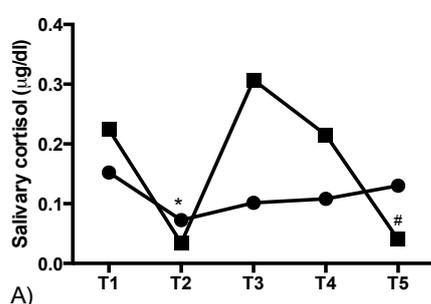


Figura 4. A) Níveis de cortisol salivar.

Nota: *significa diferença estatisticamente significativa entre T2 e: T1 ($p = 0,01$), T3 ($p = 0,02$) e T4 ($p = 0,05$); #significa diferença estatisticamente significativa entre T5 e: T1 ($p = 0,04$) e T3 ($p = 0,02$).

Fonte: Do autor

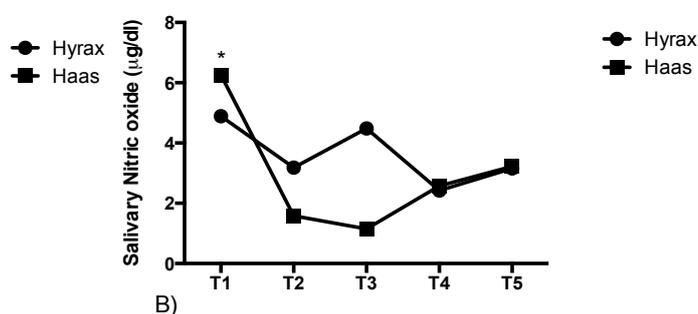


Figura 4. B) níveis de óxido nítrico.

Nota: *significa diferença estatisticamente significativa entre T1 e: T3 ($p = 0,01$) e T4 ($p = 0,04$). Durante o uso do aparelho de Haas (Teste de Friedman).

Fonte: Do autor

Tabela 2 – Mediana e média interquartil dos níveis de cortisol e óxido nítrico salivares nos diferentes momentos de coleta.

Variáveis	Hyrax (n=9)	Haas (n=7)	Valor P ⁺
Mediana do nível de cortisol salivar, em µg/dL, ± média interquartil			
T1 Antes da instalação do aparelho	0,15 ± 0,10	0,22 ± 0,40	0,87
T2 25 minutos após a ativação	0,07 ± 0,06	0,03 ± 0,18	0,31
T3 7 dias após – chegada na clínica	0,10 ± 0,10	0,30 ± 0,24	0,11
T4 7 dias após - 25 minutos após a ativação	0,10 ± 0,12	0,21 ± 0,35	0,16
T5 1 mês após a estabilização do aparelho	0,13 ± 0,10	0,04 ± 0,21	0,51
Valor P*	0,05	0,01	
Mediana do nível de óxido nítrico ± média interquartil			
T1 Antes da instalação do aparelho	4,89 ± 21,44	6,25 ± 22,72	0,87
T2 25 minutos após a ativação	3,18 ± 13,70	1,58 ± 34,52	0,42
T3 7 dias após – chegada na clínica	4,48 ± 130,57	1,14 ± 2,72	0,11
T4 7 dias após - 25 minutos após a ativação	2,42 ± 108,17	2,57 ± 3,29	0,76
T5 1 mês após a estabilização do aparelho	3,16 ± 106,33	3,22 ± 3,46	0,67
Valor P*	0,88	0,12	

⁺ Teste *Mann-Whitney* (dados não pareados)

* Teste *Friedman* (dados pareados)

Fonte: Do autor

6 DISCUSSÃO

Este estudo comparou dois aparelhos expansores da maxila, o dento-suportado (Hyrax) e o dento-muco-suportado (Haas), quanto à liberação de biomarcadores salivares como o cortisol e o NO durante a ERM em crianças. Nossos resultados demonstraram não haver diferença entre ambos os aparelhos quanto ao estresse fisiológico e o grau de inflamação causados em crianças durante este procedimento ortodôntico.

Embora estes aparelhos expansores sejam diferentes quanto à presença ou não de uma parte acrílica no aparelho de Haas localizada na abóbada palatina, diferenças entre ambos quanto aos efeitos ortopédicos não são observadas (BIEDERMAN, 1968; HAAS, 1970). Estes estudos avaliaram a ERM através de imagens escaneadas de crianças com 10 anos de idade que apresentavam fissura labiopalatina unilateral completa e tomografia computadorizada em crianças de 11 a 14 anos de idade com maloclusões classe I ou II (FAÇANHA et al., 2012; GARIB et al., 2005). Por outro lado, neste mesmo estudo usando tomografia computadorizada e análises cefalométricas encontraram diferenças entre os mesmos expansores quanto à inclinação axial provocada nos dentes (GARIB et al., 2005). Os resultados evidenciaram acentuados movimento ortopédico e expansão dento-alveolar durante a ERM com Haas e Hyrax, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2004).

Não houve diferença significativa em nenhum dos momentos de coleta quando foram comparados os aparelhos Hyrax e Haas. Entretanto, durante o uso do aparelho Haas houve diferença significativa entre os momentos de coleta de ambos os biomarcadores salivares, cortisol e NO. As comparações intragrupo mostraram que indivíduos que usaram o aparelho de Haas apresentaram menor nível de cortisol salivar 25 minutos após a primeira ativação do aparelho e um mês após a estabilização do mesmo em comparação com os demais momentos de coleta. Quanto à liberação de NO, os participantes que receberam Haas apresentaram maior nível deste biomarcador antes da instalação do aparelho expensor comparado com a coleta 7 dias após a instalação do aparelho, no momento da chegada na clínica e 25 minutos após a ativação do expensor.

Nossos resultados demonstraram que a primeira consulta antes do atendimento foi estressante para a criança. Além disso, os níveis de cortisol salivar foram significativamente maior logo após a chegada da criança na clínica 7 dias após a instalação do aparelho expensor. Nossos achados estão de acordo com estudos prévios que encontraram maiores níveis de cortisol em crianças antes da consulta odontológica, indicativo de estresse nas crianças

previamente à consulta (CURCIO et al., 2017; RODRIGUES GOMES; BARRETOBEZERRA; MAIA PRADO, 2013; FURLAN et al., 2012). Dessa forma, cirurgiões-dentistas devem estar atentos quanto ao período que antecipa a consulta odontológica, e que o paciente se encontra na sala de espera antes de receber o tratamento dentário pode ser mais estressante que o procedimento em si.

Em relação aos níveis de NO foi encontrado liberação significativamente maior antes da instalação do aparelho e um aumento após o período de estabilização do expansor entre os participantes que receberam o aparelho de Haas. De fato, procedimentos ortopédicos provocam reação inflamatória nos tecidos periodontais (TZANNETOU et al., 1999) e podem levar a um aumento dos níveis de NO até uma hora após a aplicação das forças mecânicas (FORD et al., 2014). O aumento do nível de NO nos pacientes que usaram aparelho de Haas durante o período de estabilização pode ser explicado pela dificuldade de higienização adequada devido à presença da parte acrílica neste aparelho. Portanto, deve-se aconselhar aos usuários do aparelho de Haas instruções para realização de higienização bucal adequada durante o tratamento ortodôntico.

A principal limitação do nosso estudo referiu-se ao tamanho da amostra, visto que contamos com um número limitado de participantes em cada grupo. Entretanto, o tamanho da amostra teve um poder suficiente para detectar diferenças significativas durante os momentos de coleta das crianças que usaram o aparelho de Haas. Embora seja sugerido que ortodontistas escolham os períodos de ativação e estabilização do aparelho expansor de acordo com as características de cada paciente (GARCIA et al., 2015), neste estudo, estes protocolos foram padronizados para todos os participantes a fim de evitar qualquer influência nos resultados. Entretanto, nossos resultados demonstraram não haver associação significativa entre as características ortodônticas e demográficas e o tipo de aparelho expansor usado.

7 CONCLUSÃO

Podemos concluir que crianças ficam mais estressadas na sala de espera no momento que antecipa o atendimento odontológico do que durante o procedimento ortodôntico de ERM em si. Além disso, maior grau de inflamação nas crianças com o uso do aparelho de Haas pode estar associado com a higienização bucal dificultada pela presença da placa de acrílico presente neste aparelho durante o tratamento ortodôntico.

REFERÊNCIAS

- AKYUZ, S.; PINCE, S.; HEKIN, N. Children's stress during a restorative dental treatment: assessment using salivary cortisol measurements. **J Clin Pediatr Dent**, v. 20, n. 3, p. 219-23, Spring 1996.
- ALBUQUERQUE, R.R.; ETO, L.F. Previsibilidade de sucesso na disjunção palatina avaliada pelo estágio de maturação esquelética. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**, Maringá, v.11, n.2, p. 74-83, Abr. 2006.
- ALMEIDA, R. C.; ALMEIDA, M. H. C. Aparelho disjuntor fusionado, uma nova visão da disjunção palatina. **Ortodontia SPO**, v. 41, n. 1, p. 55-9, 2008.
- AMATO, J. N. et al. Assessment of sleep bruxism, orthodontic treatment need, orofacial dysfunctions and salivary biomarkers in asthmatic children. **Arch Oral Biol**, v. 60, n. 5, p. 698-705, May. 2015.
- ANGELL, E. H. Treatment of irregularity of the permanent or adult teeth. **Dental Cosmos**, Philadelphia, v. 1, n. 540-544, 1860.
- ATUG OZCAN, S. S. et al. Evaluation of oxidative stress biomarkers in patients with fixed orthodontic appliances. **Dis Markers**, v. 2014, p. 597-892, 2014.
- AVEZOV, K.; REZNICK, A. Z.; AIZENBUD, D. Oxidative stress in the oral cavity: sources and pathological outcomes. **Respir Physiol Neurobiol**, v. 209, p. 91-4, Apr. 2015.
- BARATIERI, C. et al. Efeitos transversais da expansão rápida da maxila em pacientes com má oclusão de Classe II: avaliação por Tomografia Computadorizada Cone Beam. **Rev Dent Press J Orthod**, Maringá, v.15, n.5, p. 89-97, Out. 2010.
- BARATIERI, C.L. et al. Transverse effects on the nasomaxillary complex one year after rapid maxillary expansion as the only intervention: A controlled study. **Rev Dent Press J Orthod**, Florianópolis, v.19, n.5, p. 79-87, Oct. 2014.
- BATISTA, A. C. et al. Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. **Oral Dis**, v. 8, n. 5, p. 254-60, Sept. 2002.
- BIEDERMAN, W. A hygienic appliance for rapid expansion. **J Clin Orthod**, v. 2, n. 2, p. 67-70, 1968.

BINDER, R.E. Correction of posterior crossbites: diagnosis and treatment. **Pediatr Dent**, v. 26, n. 3, p. 266-272, 2004.

CAPELOZZA FILHO, L.; SILVA FILHO, O.G. Expansão rápida da maxila: considerações gerais e aplicação clínica. Parte I. **Revista Dental Press Ortodon Ortop Facial**, Maringá, v.2, n.3, p.88-102, Maio/Jun.1997.

CURCIO, W.B. et al. Relationship Between Salivary Cortisol Levels and Children's Behavior During a Dental Examination. **J Dent Child**, v. 84, n. 2, p.80-85, 2017.

D'ATTILLIO, M. et al. Gingival endothelial and inducible nitric oxide synthase levels during orthodontic treatment: a cross-sectional study. **Angle Orthod**, v. 74, n. 6, p. 851-8, Dec. 2004.

DOS SANTOS, M. J. et al. Salivary alpha amylase and cortisol levels in children with global developmental delay and their relation with the expectation of dental care and behavior during the intervention. **Res Dev Disabil**, v. 33, n. 2, p. 499-505, Mar./Apr. 2012.

FACANHA, A. J. et al. Transverse effect of Haas and Hyrax appliances on the upper dental arch in patients with unilateral complete cleft lip and palate: a comparative study. **Dental Press J Orthod**, v. 19, n. 2, p. 39-45, Mar./Apr. 2014.

FORD, H. et al. Nitric oxide in human gingival crevicular fluid after orthodontic force application. **Arch Oral Biol**, v. 59, n. 11, p. 1211-6, Nov. 2014.

FURLAN, N.F. et al. Salivary cortisol, alpha-amylase and heart rate variation in response to dental treatment in children. **J Clin Pediatr Dent**, v. 37, n. 1, p. 83-87, 2012.

GARCIA, V. J. et al. Short-term effects of strain produced on a split palatal screw-type hyrax appliance after rapid maxillary expansion: A clinical trial. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 148, n. 6, p. 990-998, 2015.

GARIB, D. G. et al. Rapid maxillary expansion--tooth tissue-borne versus tooth-borne expanders: a computed tomography evaluation of dentoskeletal effects. **Angle Orthod**, v. 75, n. 4, p. 548-57, Jul. 2005.

GECGELEN, M. et al. Evaluation of stress and pain during rapid maxillary expansion treatments. **J Oral Rehabil**, v. 39, n. 10, p. 767-75, Oct. 2012.

GOMES, H. S. et al. Oral midazolam reduces cortisol levels during local anaesthesia in children: a randomised controlled trial. **Braz Oral Res**, v. 29, n. 1, p. S1806-83242015000100305, 2015.

GOMES, H. S. et al. Professional dental prophylaxis increases salivary cortisol in children with dental behavioural management problems: a longitudinal study. **BMC Oral Health**, v. 16, n. 1, p. 74, 2016.

GUNNAR, M.R.; WHITE, B.P. Salivary cortisol measures in infant and child assessment. In: SINGER, L.T.; ZESKIND, P.S. **Biobehavioral assessment of the infant**, p. 167–189; 2001.

HAAS, A. J. Rapid expansion of the maxillary dental arch and nasal cavity by opening the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 31, n. 2, p 73-90, April 1961.

HAAS, A. J. Palatal expansion: just the beginning of dentofacial orthopedics. **Am J Orthod**, v. 57, n. 3, p. 219-255, Mar. 1970.

HAAS, A. J. Interviews. **J. Clin Orthod**, p. 227-245, 1973.

HANRAHAN, K. et al. Strategies for salivary cortisol collection and analysis in research with children. **Appl Nurs Res**, v. 19, n. 2, p. 95-101, May 2006.

HAYASHI, K. et al. Involvement of nitric oxide in orthodontic tooth movement in rats. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 122, n. 3, p. 306-9, Sep 2002.

HILGERS, D. et al. Expansão rápida da maxila com aparelho disjuntor de Hyrax: avaliação da estabilidade. **Revista Ortodontia Gaúcha**, Porto Alegre, v.15, n.1, p. 26-33, Jun 2011.

HILL, C. M.; WALKER, R. V. Salivary cortisol determinations and self-rating scales in the assessment of stress in patients undergoing the extraction of wisdom teeth. **Br Dent J**, v. 191, n. 9, p. 513-5, Nov 10 2001.

ISAACSON, R.; INGRAM, A. H. Forces produced by rapid maxillary expansion: II. Forces present during treatment. **Angle Orthod**, v. 34, n. 4, p. 261-269, Oct. 1964.

IZUKA, E.N.; FERES, M.F.N.; PIGNATARI, S.S.N. Immediate impact of rapid maxillary expansion on upper airway dimensions and on the quality of life of mouth breathers. **Rev Dent Press J Orthod**. São Paulo, v.20, n.3, p. 43-49, Jun. 2015.

KAMBALIMATH, H. V.; DIXIT, U. B.; THYAGI, P. S. Salivary cortisol response to psychological stress in children with early childhood caries. **Indian J Dent Res**, v. 21, n. 2, p. 231-7, Apr./Jun. 2010.

KAWAKAMI, R. Y. et al. Comparação dos efeitos dento- esqueléticos produzidos por dois tipos de disjuntores palatinos, por meio de análise cefalométrica em norma lateral. **Ortodontia**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 8-27, Set./Dez. 1999.

KENDALL, H. K.; MARSHALL, R. I.; BARTOLD, P. M. Nitric oxide and tissue destruction. **Oral Dis**, v. 7, n. 1, p. 2-10, Jan. 2001.

KIRSCHBAUM, C.; HELLHAMMER, D. H. Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications. **Psychoneuroendocrinology**, v. 19, n. 4, p. 313-33, 1994.

LIMA, D. P. et al. Saliva: reflection of the body. **Int J Infect Dis**, v. 14, n. 3, p. e184-8, Mar. 2010.

LUNDBERG, J. O.; WEITZBERG, E.; GLADWIN, M. T. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. **Nat Rev Drug Discov**, v. 7, n. 2, p. 156-67, Feb. 2008.

MAZZIEIRO, E. T.; HENRIQUES, J. F. C.; FREITAS, M. R. Estudo cefalométrico, em norma frontal, das alterações dento esqueléticas após expansão rápida maxilar. **Ortodontia**, São Paulo, v. 29, n.1, p. 31-42, Jan./Abr. 1996.

MELGACO, C. A. et al. Rapid maxillary expansion effects: an alternative assessment method by means of cone-beam tomography. **Dental Press J Orthod**, v. 19, n. 5, p. 88-96, Sep./Oct. 2014.

MODESTI, J. A. **Mordida cruzada posterior: diagnóstico, tratamento e prognóstico**. 2013. 65f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização) – Instituto Latino Americano de Pesquisa e ensino Odontológico, Curitiba, 2013.

OLIVEIRA, N. L. et al. Three-dimensional assessment of morphologic changes of the maxilla: a comparison of 2 kinds of palatal expanders. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 126, n. 3, p. 354-62, Sept. 2004.

PRATA, T. H. C. Estudo do crescimento maxilar e mandibular na fase de aceleração do surto de crescimento puberal. **Rev Dent Press Ortodon Ortop Facial**, v. 6, p. 19-31, 2001.

RAI, K. et al. Estimation of salivary cortisol in children with rampant caries. **J Clin Pediatr Dent**, v. 34, n. 3, p. 249-52, Spring 2010.

RODRIGUES GOMES, S. S.; BARRETOBEZERRA, A. C.; MAIA PRADO, A. C. Salivary biomarkers, vital signs and behaviour of pre-school children during their first dental visit. **Eur J Paediatr Dent**, v. 14, n. 4, p. 279-83, Dec. 2013.

SILVA FILHO, O. G. et al. Expansão ortopédica da maxila em estágios precoces do desenvolvimento oclusal. Confecção laboratorial e apresentação de caso clínico. **Rev. Bras. Odont**, v. 46, n. 6, p. 25-34, Nov./Dez. 1989.

SILVA FILHO, O. G. et al. Comportamento da sutura palatina mediana em crianças submetidas à expansão rápida da maxila: avaliação mediante imagem de tomografia computadorizada. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**, Maringá, v.12, n.3, p. 94-13, Jun. 2007.

SOINILA, J.; NUORVA, K.; SOINILA, S. Nitric oxide synthase in human salivary glands. **Histochem Cell Biol**, v. 125, n. 6, p. 717-23, Jun. 2006.

SOLIVA H. Expansão superior e inferior em paciente adulto: uma possibilidade real de tratamento. **J Bras Ortodont**, v. 3, p. 41-44, 1998.

STRECKFUS, C. F.; BIGLER, L. R. Saliva as a diagnostic fluid. **Oral Dis**, v. 8, n. 2, p. 69-76, Mar. 2002.

SYED, M.; SACHDEV, V.; CHOPRA, R. Intercomparison of salivary nitric oxide as a biomarker of dental caries risk between caries-active and caries-free children. **Eur Arch Paediatr Dent**, v. 17, n. 4, p. 239-43, Aug. 2016.

TAVARES, C. A. E. **Acompanhamento da recuperação da sutura na expansão rápida da maxila por meio da radiografia digital direta**. 1999. 220 f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1999.

TAN, S. D. et al. Orthodontic force stimulates eNOS and iNOS in rat osteocytes. **J Dent Res**, v. 88, n. 3, p. 255-60, Mar. 2009.

TOWNEND, P. I. Technique of rapid expansion in patients with cleft lip and palate. **Br J Orthod**, v. 7, n. 2, p. 65-7, Apr. 1980.

TZANNETOU, S. et al. Interleukin-1beta and beta-glucuronidase in gingival crevicular fluid from molars during rapid palatal expansion. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 115, n. 6, p. 686-696, Jun. 1999.

WEISSHEIMER, A. et al. Immediate effects of rapid maxillary expansion with Haas-type and hyrax-type expanders: a randomized clinical trial. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 140, n. 3, p. 366-76, Sept. 2011.

WERTZ, R. A. Skeletal and dental changes accompanying rapid midpalatal suture opening. **Am J Orthod**, v. 58, n. 1, p. 41-66, Jul. 1970.

YFANTI, K. et al. Psychometric and biohormonal indices of dental anxiety in children. A prospective cohort study. **Stress**, v. 17, n. 4, p. 296-304, Jul. 2014.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar, como voluntário(a), da pesquisa – **O uso de biomarcadores salivares para avaliar a expansão rápida da maxila em crianças**, no caso de você concordar em participar, favor assinar ao final do documento.

Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador(a) ou com a instituição.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e endereço do pesquisador(a) principal, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação.

TÍTULO DA PESQUISA: O uso de biomarcadores salivares para avaliar a expansão rápida da maxila em crianças.

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: Rodrigo Rodrigues

ENDEREÇO: Rua Gabriel Monteiro de Leite, 700, Centro, Alfenas. CEP 37130-000

TELEFONE: (35) 98841-5161

PESQUISADORES PARTICIPANTES: Prof. Dr. Tomaz Henrique Araújo, Prof^a. Dr^a Aline Carvalho Batista, Dr. Renato do Prado Gomes Pedreira, Dr^a Heloísa de Sousa Gomes Rodrigues.

PATROCIADOR: Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás (FOUFG).

OBJETIVOS: Estamos fazendo esta pesquisa porque, gostaríamos de trazer benefícios para pacientes que necessitam esse tipo de tratamento.

JUSTIFICATIVA: Saber qual aparelho pode causar um menor dano ao paciente.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO: Caso você aceite participar da pesquisa, um dentista especialista em aparelho coletará a saliva do seu filho durante o tratamento ortodôntico dele. Um rolete de algodão será colocado na boca do seu filho, sendo segurado pelo dentista, até que ele fique encharcado com a saliva. Isso ocorrerá duas vezes no dia que colocar o aparelho nele e mais duas vezes em dias diferentes.

RISCOS E DESCONFORTOS: A coleta de saliva não trará risco algum a sua criança, uma vez que o pesquisador responsável estará presente e segurará o rolete de algodão e a criança estará de acordo com ambos.

BENEFÍCIOS: Os resultados desta pesquisa poderão ajudar, no futuro, outras crianças que também precisam passar pelo mesmo tipo de tratamento de seu filho.

CUSTO/REEMBOLSO PARA O PARTICIPANTE: Não haverá nenhum gasto adicional por participar da pesquisa, terá que arcar apenas com os custos inerentes ao tratamento ortodôntico de seu filho que acontecerá independente de você aceitar ou não participar da pesquisa. Você também não receberá nenhum pagamento com a sua participação.

Se você achar que algo ruim aconteceu a criança por causa da pesquisa, poderá pedir uma indenização.

Em pesquisas onde o sujeito está sob qualquer forma de tratamento, assistência, cuidado, ou acompanhamento, apresentar a garantia expressa de liberdade de retirar o consentimento, sem qualquer prejuízo da continuidade do acompanhamento/tratamento usual.

CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA: garantia de sigilo que assegure a privacidade dos sujeitos quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa, os dados não serão

divulgados.

Assinatura do Pesquisador Responsável: _____

Eu, _____ declaro que li as informações contidas nesse documento, fui devidamente informado(a) pelo pesquisador(a) Rodrigo Rodrigues – dos procedimentos que serão utilizados, riscos e desconfortos, benefícios, custo/reembolso dos participantes, confidencialidade da pesquisa, concordando ainda em participar da pesquisa.

Foi-me garantido que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento.

Declaro ainda que recebi uma cópia desse Termo de Consentimento.

Poderei consultar o pesquisador responsável (acima identificado) ou o CEPUNIFAL-MG, com endereço na Universidade Federal de Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro, Cep - 37130-000, Fone: (35) 3299-1318, no e-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br sempre que entender necessário obter informações ou esclarecimentos sobre o projeto de pesquisa e minha participação no mesmo. Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados.

LOCAL E DATA:

Nome por extenso

Assinatura

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA CRIANÇA

Eu _____, RG/CPF _____, responsável por _____, autorizo sua participação na pesquisa “**O uso de biomarcadores salivares para avaliar a expansão rápida da maxila em crianças**” Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pelos pesquisadores sobre a pesquisa, sobre o que vai ser feito, os possíveis benefícios e riscos. Foi-me garantido que posso desistir a qualquer momento sem que o tratamento do meu filho seja interrompido.

Assinatura do Responsável: _____ Alfenas, __ / __ / ____

Impressão
datiloscópica

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do participante.

Testemunhas:

1) Nome: _____

Assinatura: _____ R.G.: _____

2) Nome: _____

Assinatura: _____ R.G.: _____

APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMENTO DO PACIENTE

Eu, _____ recebi e entendi as informações necessárias sobre minha participação na pesquisa. Dessa forma, eu autorizo a coleta de amostras de saliva minha durante a realização do meu tratamento ortodôntico.

Alfenas, ____/____/____

Nome ou assinatura do paciente

APÊNDICE C – FICHA CLÍNICA – CONSULTA INICIAL

Nome:..... Idade:..... Nasc.:.....
 Endereço:..... No..... Ap.:.....
 Bairro: CEP:
 Cidade:.....
 Telefones:

Escola..... Série:..... Turma:..... Período:.....

TIPO FACIAL

Braquifacial Mesofacial Dolicofacial Observação:.....

CONDIÇÃO DENTÁRIA

Boa Ruim Cáries Perdas prematuras Retenção prolongada

CLASSIFICAÇÃO DA MALOCCLUSÃO/OCLUSÃO DENTÁRIA

Overjetmm *Overbite*mm Mordida cruzada anterior Mordida cruzada posterior Mordida aberta anterior Mordida aberta posterior Diastema inter-incisivos centrais superiores Diastema entre outros dentes Infra-oclusão de dentes decíduos Outros.....
 Oclusão clinicamente normal Classe I Classe II, 1 Classe II, 1, subdivisão Classe II, 2 Classe II, 2 subdivisão Classe III Classe III subdivisão

CONDIÇÃO FUNCIONAL

Selamento Labial: Sim Não Chupeta Dedo Qual/is.....
 Respiração: nasal bucal mista Alergia: Não Sim Tipo de alergia:
 Forma da arcada: Maxilar.....
 Mandibular.....

TRATAMENTO ORTODÔNTICO PRÉVIO

Não Sim Se sim, quando.....por quê.....por quanto tempo:..... Fixo
 Removível. Exames complementares: Não Sim Completo Incompleto

INDICAÇÃO PARA TRATAMENTO

Preventivo Interceptativo Corretivo Graduação Pós-Graduação

OBSERVAÇÕES

.....

Data:..... Nome e assinatura do
 examinador:.....

APÊNDICE D – INSTRUÇÕES AOS RESPONSÁVEIS

- Ativação do aparelho:

A ativação é realizada através de uma chave (com um fio dental amarrado e mantido do lado de fora da boca, evitando risco de deglutição), encaixada ao parafuso expensor e girada em sentido posterior(para o fundo da boca), com frequência _____, por _____ dias .

Após a estabilização do aparelho, este permanece na boca do paciente por aproximadamente 06 meses.

- Higienização:

Apesar de um certo grau de dificuldade, deve ser realizada obrigatoriamente, após as refeições e principalmente antes de dormir.

Inicialmente, usa-se a escova dentária convencional, higienizando os dentes e o aparelho.

A etapa seguinte seria o uso de jatos de água nas regiões laterais e no meio do aparelho usando uma seringa descartável (sem agulha).

À noite o processo é o mesmo porém, complementado com o uso do fio dental, para eliminar os sempre presentes restos alimentares entre o aparelho e a mucosa. Recomenda-se o fio dental Super Floss da Oral-B, por conter a ponta rígida e uma parte esponjosa, limpando com mais eficiência

- Intercorrências:

Por se tratar de um tratamento rápida, o cliente não deve se ausentar por muito tempo do consultório (o controle deve ser, no mínimo quinzenal), seguir rigorosamente as recomendações de ativação e higienização e manter seu ortodontista sempre informado de qualquer alteração.

- Cuidados com a alimentação:

Evite comer doces duros ou grudentos demais, como: balas, chicletes e pirulitos, caramelo e tudo mais que possa ficar grudado no aparelho.

Quando for comer frutas ou vegetais, corte-os em pedaços.

Também vale lembrar que morder gelo, comer pipoca ou lanches muito duros também prejudica o seu aparelho.

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA EXPANSÃO RÁPIDA DA MAXILA DE CRIANÇAS ATRAVÉS DO USO DE BIOMARCADORES SALIVARES

Pesquisador: RODRIGO RODRIGUES

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 61544816.2.0000.5142

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.854.338

Apresentação do Projeto:

Versão 2 do trabalho vinculado ao programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas com financiamentos: próprio, da Unifal-MG, do Instituto Marcelo Pedreira e da Universidade Federal de Goiás.

Objetivo da Pesquisa:

- Avaliar o nível de óxido nítrico (NO) e cortisol na saliva de crianças durante o uso dos aparelhos de Hyrax e de Haas;
- Comparar os aparelhos de Hyrax e de Haas em relação ao nível de óxido nítrico e cortisol salivar;
- Testar a correlação entre o nível dos biomarcadores salivares.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS E DESCONFORTOS: Os possíveis riscos e desconfortos que podem ocorrer aos participantes da pesquisa (crianças) são os mesmos do tratamento ortodôntico com uso de aparelhos de Hyrax e de Haas como por exemplo: dor, sensação de pressão nos dentes e no céu da boca, sangramento, dificuldade na fala e deglutição. Se ocorrer algum desses eventos adversos em algum momento da pesquisa, será avaliada a necessidade de adequar ou suspender o estudo. Ao final da pesquisa fica garantido a conclusão do tratamento proposto inicialmente para o paciente.

BENEFÍCIOS: Os resultados desta pesquisa poderão ajudar, no futuro, outras crianças que também

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro

CEP: 37.130-000

UF: MG

Município: ALFENAS

Telefone: (35)3299-1318

Fax: (35)3299-1318

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



Continuação do Parecer: 1.854.338

precisam passar pelo mesmo tipo de tratamento de seu filho.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A metodologia da pesquisa e as referências estão atualizadas e adequadas aos objetivos do projeto. O cronograma de execução da pesquisa está coerente com os objetivos propostos e adequado ao tempo de tramitação do projeto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Modelo de Declaração de Instituições Coparticipantes - Presente e adequado;

Modelo de Termo de Compromisso para utilização de Dados e Prontuários (TCUD) - Presente e adequado;

TCLE - Presente e adequado;

Termo de Anuência do responsável pela instituição - Presente e adequado;

Termo de Assentimento - Presente e adequado;

Folha de rosto - OK.

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado do CEP acata o parecer do relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_803761.pdf	24/11/2016 16:02:34		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_final_corrigido.pdf	23/11/2016 22:37:43	RODRIGO RODRIGUES	Aceito
Outros	termo_de_anuencia.pdf	23/11/2016 22:32:01	RODRIGO RODRIGUES	Aceito
Outros	coparticipante_imp.pdf	23/11/2016 22:18:11	RODRIGO RODRIGUES	Aceito
Outros	coparticipante_ufg.pdf	23/11/2016 22:16:51	RODRIGO RODRIGUES	Aceito

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro

CEP: 37.130-000

UF: MG

Município: ALFENAS

Telefone: (35)3299-1318

Fax: (35)3299-1318

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



Continuação do Parecer: 1.854.338

Outros	TCUD.pdf	23/11/2016 21:49:30	RODRIGO RODRIGUES	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	28/10/2016 09:36:51	RODRIGO RODRIGUES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_final.pdf	06/10/2016 08:40:09	RODRIGO RODRIGUES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ALFENAS, 02 de Dezembro de 2016

Assinado por:
Marcela Filié Haddad
(Coordenador)

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro

CEP: 37.130-000

UF: MG

Município: ALFENAS

Telefone: (35)3299-1318

Fax: (35)3299-1318

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

ANEXO B – INSTRUÇÕES DO KIT SALIMETRICS



High Sensitivity

SALIVARY CORTISOL

ENZYME IMMUNOASSAY KIT

For Research Use Only

Item No. 1-3002, (Single) 96-Well Kit;

1-3102-5, (5-Pack) 480 Wells

Rev. March 2011

Salimetrics, LLC
101 Innovation Blvd., Suite 302
State College, PA 16803, USA
(T) 814-234-7748, (F) 814-234-1608
800-790-2258 (USA & Canada only)
www.salimetrics.com
support@salimetrics.com

Salimetrics Europe, Ltd.
Unit 7, Acorn Business Centre
Oaks Drive, Newmarket
Suffolk, CB8 7SY, UK
(T) +44 (0) 1638782619, (F) +44 (0) 1638782606
info@salimetricseurope.com

Reagent Preparation

- Bring all reagents to room temperature and mix before use. A minimum of 1.5 hours is necessary for the 24 mL of assay diluent used in Step 5 (conjugate dilution) to come to room temperature.
- Bring microtitre plate to room temperature before use. *It is important to keep the zip-lock pouch with the plate strips closed until warmed to room temperature as humidity may have an effect on the coated wells.*
- Prepare 1X wash buffer by diluting wash buffer concentrate 10-fold with room-temperature deionized water (100 mL of 10X wash buffer to 900 mL of deionized H₂O). *Dilute only enough for current day's use, and discard any leftover reagent.* (If precipitate has formed in the concentrated wash buffer, it may be heated to 40°C for 15 minutes. Cool to room temperature before use in assay.)

Procedure

Step 1: Determine your plate layout. Here is a suggested layout.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	3.000 Std	3.000 Std	Ctrl-H	Ctrl-H								
B	1.000 Std	1.000 Std	Ctrl-L	Ctrl-L								
C	0.333 Std	0.333 Std	Unk-1	Unk-1								
D	0.111 Std	0.111 Std	Unk-2	Unk-2								
E	0.037 Std	0.037 Std	Unk-3	Unk-3								
F	0.012 Std	0.012 Std	Unk-4	Unk-4								
G	Zero	Zero	Unk-5	Unk-5								
H	NSB	NSB	Unk-6	Unk-6								

Step 2: Keep the desired number of strips in the strip holder and place the remaining strips back in the foil pouch. If you choose to place non-specific binding wells in H-1, 2, remove strips 1 and 2 from the strip holder and break off the bottom wells. Place the strips back into the strip holder leaving H-1, 2 blank. Break off 2 NSB wells from the strip of NSBs included in the foil pouch. Place in H-1, 2. Alternatively, NSBs may be placed wherever you choose on the plate. Reseal the zip-lock foil pouch containing unused wells and desiccant. Store at 2-8°C.

Cautions: *1. Extra NSB wells should not be used for determination of standards, controls or unknowns.*

2. Do not insert wells from one plate into a different plate.

Step 3: Pipette 24 mL of assay diluent into a disposable tube. Set aside for Step 5.

Step 4:

- Pipette 25 μ L of standards, controls, and unknowns into appropriate wells. Standards, controls, and unknowns should be assayed in duplicate.
- Pipette 25 μ L of assay diluent into 2 wells to serve as the zero value.
- Pipette 25 μ L of assay diluent into each NSB well.

Step 5: Make a 1:1600 dilution of the conjugate by adding 15 μ L of the conjugate to the 24 mL of assay diluent prepared in Step 3. (Scale down proportionally if not using the entire plate.) Immediately mix the diluted conjugate solution and pipette 200 μ L into each well using a multichannel pipette. Make note of any wells with dark yellow or purple pH indicator changes (see description of pH indicator, p. 5).

Step 6: Mix plate on rotator for 5 minutes at 500 rpm (or tap to mix) and incubate at room temperature for an additional 55 minutes.

Step 7: Wash the plate 4 times with 1X wash buffer. A plate washer is recommended. However, washing may be done by gently squirting wash buffer into each well with a squirt bottle, or by pipetting 300 μ L of wash buffer into each well, and then discarding

the liquid by inverting the plate over a sink. After each wash, the plate should be thoroughly blotted on paper towels before being turned upright. *If using a plate washer, blotting is still recommended after the last wash, just before the addition of the TMB.*

Step 8: Add 200 μ L of TMB solution to each well with a multichannel pipette.

Step 9: Mix on a plate rotator for 5 minutes at 500 rpm (or tap to mix) and incubate the plate in the dark at room temperature for an additional 25 minutes.

Step 10: Add 50 μ L of stop solution with a multichannel pipette.

Step 11:

- Mix on a plate rotator for 3 minutes at 500 rpm (or tap to mix).
Caution: Spillage may occur if mixing speed exceeds 600 rpm.
- Wipe off bottom of plate with a water-moistened, lint-free cloth and wipe dry.
- Read in a plate reader at 450 nm. Read plate within 10 minutes of adding stop solution. (Correction at 490 to 630 nm is desirable.)

Quality Control

The Salimetrics' high and low salivary cortisol controls should be run with each assay. The control ranges established at Salimetrics are to be used as a guide. Each laboratory should establish its own range. Variations between laboratories may be caused by differences in techniques and instrumentation.