



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA**



**FELIPE GRAÇA ANDRADE**

**IMPACTO DA RADIOTERAPIA NA  
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROPRIEDADES  
MECÂNICAS NA REGIÃO CERVICAL DA  
DENTINA HUMANA**

**UBERLÂNDIA**

**2017**

**FELIPE GRAÇA ANDRADE**

**IMPACTO DA RADIOTERAPIA NA  
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROPRIEDADES  
MECÂNICAS NA REGIÃO CERVICAL DA  
DENTINA HUMANA**

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado a Faculdade de  
Odontologia da UFU, como requisito  
parcial para obtenção do título de  
Graduado em Odontologia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Veridiana  
Resende Novais Simamoto.

**UBERLÂNDIA**

**2017**

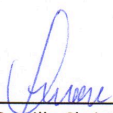


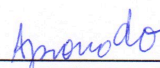
**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

ATA DA COMISSÃO JULGADORA DA DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DO (A) DISCENTE **Felipe Graça Andrade** DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.

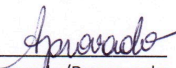
No dia cinco de julho de 2017, reuniu-se a Comissão Julgadora aprovada pelo Colegiado de Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, para o julgamento do Trabalho de Conclusão de Curso apresentado pelo (a) aluno (a) **Felipe Graça Andrade, COM O TÍTULO: "IMPACTO DA RADIOTERAPIA NA CAMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROPRIEDADES MECÂNICAS NA REGIÃO CERVICAL DA DENTINA HUMANA"**. O julgamento do trabalho foi realizado em sessão pública compreendendo a exposição, seguida de arguição pelos examinadores. Encerrada a arguição, cada examinador, em sessão secreta, exarou o seu parecer. A Comissão Julgadora, após análise do Trabalho, verificou que o mesmo encontra-se em condições de ser incorporado ao banco de Trabalhos de Conclusão de Curso desta Faculdade. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas da Graduação, legislação e regulamentação da UFU. Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos e lavrada a presente ata, que após lida e achada conforme, foi assinada pela Banca Examinadora.

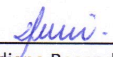
Uberlândia, 05 de julho de 2017

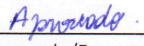
  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Camilla Christian Gomes Moura  
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

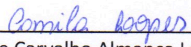
  
\_\_\_\_\_  
Aprovado/Reprovado

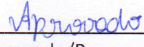
  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Juliana Bisinotto Gomes Lima  
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

  
\_\_\_\_\_  
Aprovado/Reprovado

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Veridiana Resende Novais Simamoto  
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

  
\_\_\_\_\_  
Aprovado/Reprovado

  
\_\_\_\_\_  
Camila de Carvalho Almança Lopes  
Aluno de Doutorado – PPGO/UFU

  
\_\_\_\_\_  
Aprovado/Reprovado

## **DEDICATÓRIA**

**A Deus,**

Eu sou o caminho, a Verdade e a Vida!

Obrigado por ter me dado o dom da vida e por me possibilitar concretizar esta importante conquista, me fornecendo sabedoria e paz espiritual!

**Aos meus pais, Mauro Lúcio e Maria de Lourdes,**

que sempre estiveram ao meu lado, independente das minhas escolhas. Com vocês aprendi o que é ser um ser humano dedicado, com boa educação, cheio de vida e amor.

Esta conquista não é somente minha. Sem o amparo de vocês, nada seria possível. Por isso, compartilho cada momento desse sonho com vocês! Amo incondicionalmente!

**Ao meu noivo, Ângelo.**

Você sabe tudo o que passei nesses 5 anos, cada detalhe, cada momento de dificuldade e também os de glória. Por isso, não poderia deixar de te agradecer. Esta é apenas mais uma conquista que teremos em uma vida longa e plena juntos. Obrigado por me conhecer tão bem e pelo amor a mim depositado. Amo você!

## AGRADECIMENTOS

À toda minha família mais próxima, em especial aos meus queridos irmãos, Marcelo, Mauro Lúcio e Thainara. Com vocês eu cresci e em muitos momentos os fiz de espelho para formar meu caráter. Vocês são muito especiais e com certeza não estamos aqui neste mundo juntos ao acaso, como irmãos. Obrigado por mesmo com nossas diferenças, me apoiarem em todos os momentos da minha vida. Estarei com vocês sempre, lado a lado!

Às minhas cunhadas Kiara e Edilaine, meu cunhado Ita Mazzutti, minhas lindas sobrinhas Mariana e Manuela e meus queridos sogros Ana Célia e Mauro Mazzutti. Vocês chegaram em minha vida depois de alguns anos, mais merecem meu agradecimento e meu carinho. Com vocês, minha família se expandiu de uma forma muito bonita. Somos companheiros, amigos e amorosos uns com os outros. Obrigado por fazerem parte desta família que tanto amo e admiro.

À toda minha família, minha Vó, meus Tios e meus Primos. Fazer parte dessa família reflete na pessoa que sou hoje. Obrigado por tudo!

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Veridiana Resende Novais Simamoto pela orientação, paciência, ensinamentos e compreensão das minhas limitações na realização deste trabalho. Quando a conheci, parecia uma aluna da Universidade, tamanha sua jovialidade. Mais ao longo dos dias, percebi o quão grande era sua sabedoria e o quanto eu poderia aprender com ela. Conhecê-la melhor aumentou minha admiração não somente como professora, mas também como ser humano. Obrigado por ter me acolhido no grupo de pesquisa e por sempre me tratar com educação e cordialidade.

À minha coorientadora Renata Borges. Como foi prazeroso trabalhar com você nos últimos 2 anos. Ao longo desse período, nos tornamos amigos. Não teria palavra melhor para descrever nossa relação. Amizade é quando um ajuda o outro de alguma forma, e essa ajuda se torna mútua. Hoje digo que é uma amiga pois tudo que aprendi em pesquisa, devo a você. Obrigado pela paciência, carinho, dedicação, puxões de orelha e por sempre estar disposta a

transmitir o que sabe a mim. Nunca esquecerei de como foi legal e produtivo trabalhar com você.

Aos meus amigos, sejam eles amigos de longa data, ou os amigos que conquistei nos últimos anos. Com vocês eu tive apoio nos momentos difíceis e dividi os bons momentos com muita alegria e sinceridade. Vocês fazem parte dessa conquista também. Obrigado a todos! Estarão sempre no meu coração.

Aos meus colegas de faculdade, em especial Isadora e Higor. Com vocês passei meus últimos 5 anos. Aprendi muito com todos e agradeço por ter feito parte da família 76. Vocês são show!

Aos professores da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia (FOUFU) pela amizade, dedicação e ensinamentos transmitidos a mim na graduação.

Ao Centro de Pesquisa de Biomecânica, Biomateriais e Biologia Celular (CPBio) por ser um laboratório com bons equipamentos e bem equipado para realização de pesquisas. E a todas as pessoas envolvidas que sempre estiveram dispostos a ajudar com seus conhecimentos.

Ao Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores (LNMIS) do Instituto de Física (INFIS) da Universidade Federal de Uberlândia, na pessoa do Prof. Dr. Noelio Oliveira Dantas, por permitir a realização da espectroscopia Raman. E à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Anielle Christine Almeida Silva também do INFIS, não tenho palavras para agradecer a dedicação, paciência e ajuda na realização das metodologias deste trabalho. Você foi fundamental para eu chegar até aqui, muito obrigado!

Ao Prof. Dr. Gelson Biscaia de Souza e toda sua equipe do Departamento de Física da Universidade Estadual de Ponta Grossa, por possibilitar a realização da metodologia nanodureza. Obrigado pela receptividade, atenção e hospitalidade. Os conhecimentos que me transmitiram foram fundamentais para minha formação.

À Universidade Federal de Triângulo Mineiro (UFTM), que abriu as portas do Hospital das Clínicas, tão gentilmente, para que fosse feito a

irradiação dos dentes em estudo. Sem essa ajuda, não seria possível proceger com o estudo. Então, muito obrigado.

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia (FOUFU), por ter me oferecido os recursos necessários para que hoje eu entre no mercado de trabalho com uma boa formação, não só acadêmica como também com ética profissional.

A todos que torceram por mim e que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho!

## EPÍGRAFE

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

## SUMÁRIO

|                                                      |    |
|------------------------------------------------------|----|
| RESUMO.....                                          | 10 |
| ABSTRACT .....                                       | 11 |
| INTRODUÇÃO E REFERÊNCIAL TEÓRICO.....                | 12 |
| PROPOSIÇÃO.....                                      | 15 |
| MATERIAIS E MÉTODOS.....                             | 16 |
| (1) Delineamento experimental.....                   | 16 |
| (2) Seleção, limpeza e armazenamento dos dentes..... | 16 |
| (3) Grupos experimentais.....                        | 17 |
| (4) Irradiação dos dentes.....                       | 17 |
| (5) Preparo dos dentes.....                          | 18 |
| (6) FTIR.....                                        | 20 |
| (7) Espectroscopia Raman.....                        | 22 |
| (8) Nanodureza e Módulo de Elasticidade.....         | 24 |
| (9) Análises Estatísticas.....                       | 29 |
| RESULTADOS.....                                      | 30 |
| (1) Análise Química.....                             | 29 |
| (2) Análise Mecânica.....                            | 31 |
| DISCUSSÃO.....                                       | 31 |
| CONCLUSÃO.....                                       | 37 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                      | 37 |
| ANEXO – PARECER COMITÊ DE ÉTICA.....                 | 45 |

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da radioterapia na composição química e propriedades mecânicas da dentina humana com foco na região cervical. Para isso, foram utilizados dez dentes terceiros molares hígidos que foram submetidos à radioterapia *in vitro* de acordo com o seguinte protocolo radioterápico: 2 Gy diários, 5 dias por semana por 7 semanas, totalizando 70 Gy. Os dentes foram divididos de acordo com os grupos experimentais (n=5): Grupo não irradiado (NR) e Grupo Irradiado (IR). Para cada grupo foi avaliada a dentina da região cervical. Foi feita avaliação da composição química por meio de Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR) e Espectroscopia Raman avaliando os seguintes parâmetros: razão mineral/matriz (M:M), razão carbonato/mineral (C:M), razão amida I/amida III e razão amida I/CH<sub>2</sub>. E avaliação das propriedades mecânicas por meio de ensaio de Nanodureza e Módulo de Elasticidade. Teste T foi feito para análise estatística em cada parâmetro avaliado comparando grupo NR e IR. Para a razão M:M, apenas o Raman detectou diferença estatística entre os grupos (p<0,001). Já para a C:M, houve diferença significativa na avaliação feita pelo FTIR (p=0,004). Para a razão amida I/amida III houve diferença para FTIR e Raman (p=0,007 e p<0,001, respectivamente). E para razão amida I/CH<sub>2</sub> houve diferença estatística apenas para o Raman (p<0,001). Para avaliação mecânica Teste T mostrou diferença entre os grupos apenas para nanodureza (p=0,03). Pode-se concluir que a radioterapia alterou a composição química e a nanodureza da dentina cervical. O Raman e o FTIR apresentam-se como metodologias complementares para avaliar alterações na composição química.

**Palavras chaves:** Dentina, Propriedades Biomecânicas, Radioterapia.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of radiotherapy on the chemical composition and mechanical properties of human dentine focused on the cervical region. For this, healthy third ten molar teeth were used, which were submitted to radiotherapy in vitro according to the following radiotherapy protocol: 2 Gy per day, 5 days per Week for 7 weeks, totaling 70 Gy. The teeth were divided according to the experimental groups (n = 5): Non-irradiated group (NR) and Irradiated group (IR). For each group the dentin of the cervical region was evaluated. It was evaluated the chemical composition by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Raman Spectroscopy using the following parameters: mineral / matrix ratio (M: M), carbonate / mineral ratio (C: M), amide I / amide ratio III and amide ratio I / CH<sub>2</sub>. And evaluation of the mechanical properties by means of Nanohardness test and Elastic Modulus. T-test was done for statistical analysis in each parameter evaluated comparing group NR and IR. For the M: M, only the Raman detected statistical difference between the groups (p <0.001). As for the C: M, there was a significant difference in the FTIR evaluation (p = 0.004). For the amide I / amide III ratio there was difference for FTIR and Raman (p = 0.007 and p <0.001, respectively). And for amide I / CH<sub>2</sub> ratio there was statistical difference only for Raman (p <0.001). For mechanical evaluation T test showed difference between the groups only for nanohardness (p = 0.03). It can be concluded that radiotherapy altered the chemical composition and nanohardness of cervical dentin. Raman and FTIR are presented as complementary methodologies to evaluate changes in chemical composition.

**Keywords: Dentin, Biomechanical properties, Radiotherapy.**

## INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

Com o avanço das tecnologias medicinais e melhora na qualidade de vida, o envelhecimento da população se tornou algo comum (Jansma et al., 1993; Vissink et al., 2003). Houve um grande aumento dos cuidados com a saúde, dentre eles, com a saúde bucal. Com isso, espera-se que cada vez mais pacientes sejam diagnosticados precocemente com câncer de cabeça e pescoço (Andrews e Griffiths, 2001). A estimativa de novos casos de câncer de cabeça e pescoço no Brasil para o ano de 2016 era de 15.490, segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2015). Esse tipo de câncer acomete principalmente a cavidade oral (maxila e mandíbula), estruturas periorais, faringe e laringe (Jemal et al., 2008). São responsáveis por 900 mil novos casos por ano no mundo (Silveira et al., 2012), sendo a sexta causa de morte por câncer (Ruiz et al., 2006).

Atualmente, a medicina dispõe de alguns tipos de tratamento de câncer de cabeça e pescoço, como por exemplo, cirurgia e tratamentos à base de irradiação (radioterapia) e/ou quimioterapia (Beumer, Curtis e Marunick, 1996). A radioterapia é um método eficiente de destruir células tumorais através de feixes de radiações ionizantes, onde uma dose pré-determinada de radiação é aplicada, por um certo período de tempo, a um volume de tecido onde o tumor se encontra, para assim eliminar as células tumorais e manter, o máximo possível, as células sadias do tecido envolvido (INCA, Radioterapia, 1993). Os tratamentos são feitos basicamente pelo que se denomina como “fracionamento ideal”. Neste tratamento uma dose total de 65 a 72 Gy de radiação de alta energia de raios x é aplicada, em frações diárias de 1,8 a 2 Gy, durante aproximadamente 7 semanas, 5 dias por semana (Beumer, Curtis e Marunick, 1996; Seikaly et al., 2004; Jham et al., 2006; Kielbassa et al., 2006; Nutting et al., 2011).

Várias complicações induzidas por radiação ocorrem após o tratamento por radioterapia na região de cabeça e pescoço (Kielbassa et al., 2006). Estas complicações afetam principalmente estruturas importantes como as glândulas salivares, dentes, mucosas orais, ossos e papilas gustativas (Andrews e

Griffiths, 2001). Os danos causados na dentição começam a ocorrer no primeiro ano após o tratamento radioterápico e tornam-se mais graves ao longo dos anos (Karmioli et al., 1975). Como consequência pode-se citar: a perda do paladar, sensibilidade ou dor dos tecidos moles, infecções por fungos e mucosite e a hipossalivação que pode causar a xerostomia, sensação de secura da boca (Anneroth et al., 1985; Beumer, Curtis e Marunick, 1996; Lee et al., 2002; Jham & Freire, 2006; Kielbassa et al., 2006; Osailan et al., 2011).

Ainda por conta da dor decorrente da mucosite e da associação com a perda de paladar, comum aos pacientes irradiados, ocorrem modificações na dieta, normalmente com aumento do consumo de alimentos menos fibrosos e mais ricos em carboidratos, e consequentemente mais cariogênicos (Pankhurst et al., 1996; Kielbassa et al., 2006; Sciubba e Goldenberg, 2006). Também pode gerar problemas mais sérios como: músculos atrofiados na região da mandíbula, trismo, mudanças da microflora bacteriana e de proteínas e a osteorradionecrose da mandíbula (Beumer, Curtis e Marunick, 1996; Jham & Freire, 2006; Kielbassa et al., 2006).

Mas, além de causar danos às estruturas que envolvem a cabeça e pescoço, a radioterapia pode acarretar mudanças físicas e químicas nos dentes. Como modificação das propriedades mecânicas, pode-se citar a alteração da microdureza superficial (Kielbassa et al., 1997; Franzel et al., 2006), resistência à tração e resistência à fratura (Aoba et al., 1981; Baker, 1982; Soares et al., 2010).

Sobre os efeitos que são causados diretamente na composição química dos dentes, há uma redução da interação entre os componentes orgânicos e os cristais de hidroxiapatita do esmalte e da dentina, o que também justifica a fragilidade do dente frente ao acometimento das cáries de irradiação (Lieshout & Bots, 2014). Estudos demonstram que a imunorreatividade do colágeno tipo IV dentro da matriz orgânica do esmalte é reduzida após doses elevadas de radiação in vivo. Assim, a diminuição do colágeno tipo IV em dentes submetidos à radioterapia pode representar um mecanismo de instabilidade da junção amelodentinária (McGuire et al., 2014). Além disso, a medida que se aumenta a dose de irradiação, há também o aumento das alterações

morfológicas na região interprismática do esmalte, enquanto que na dentina há uma fragmentação das fibrilas colágenas, acompanhada pela presença de fissuras e obliteração dos túbulos dentinários (Gonçalves et al., 2014).

Dessa forma, o conhecimento sobre a composição química da dentina é importante para melhor compreender os efeitos da radioterapia sobre os tecidos dentais duros. A dentina é um tecido de origem mesenquimal, constitui o corpo do dente e tem como funções principais proteger a polpa e dar suporte para o esmalte sobrejacente. A dentina madura é composta de aproximadamente 70% mineral, 20% matriz orgânica e 10% de água. Seu componente inorgânico consiste em hidroxiapatita e a parte orgânica é fundamentalmente colágeno, que proporciona a resiliência necessária para a coroa suportar o ato mastigatório. As estruturas organizacionais da dentina são os túbulos dentinários, que abrigam os prolongamentos citoplasmáticos dos odontoblastos e são responsáveis pela transmissão dos estímulos à polpa (Avery, 2005; Nanci, 2013).

Assim, por apresentar um maior teor de água a dentina é mais vulnerável aos efeitos da radiação do que o esmalte (Gonçalves et al., 2014), pois a radiação afeta as moléculas de água nela presentes, formando radicais livres reativos, como oxigênio e peróxido de hidrogênio, que interagem com biomoléculas e causam danos celulares (Fang et al., 2002). Este processo pode causar desnaturação dos componentes orgânicos das estruturas dentárias (Pioch et al., 1992).

O desenvolvimento de lesões de cárie ocorre com uma grande frequência nos dentes de pacientes submetidos à radioterapia (Silva et al., 2009). A mudança provocada na microbiota bucal onde a placa bacteriana torna-se altamente acidogênica, leva a um aumento progressivo de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* e *Candida* sp. (Matos et al., 1995). Estes microrganismos, mergulhados em um meio com baixo pH e fluxo salivar, devido ao dano causado pela radiação às glândulas salivares, causam uma desmineralização da estrutura dental. Esta desmineralização ocorre inicialmente em esmalte. Com a manutenção das condições ambientais para a doença, as lesões progridem, levando à desmineralização do tecido dentinário.

Além disso, na porção de dentina, há uma perda de matriz orgânica causada pelas bactérias e enzimas proteolíticas bacterianas (Thylstrup & Fejerskov, 2001). Porém, em pacientes submetidos a tratamento radioterápico, as lesões cáries se desenvolvem de forma mais severa e possui características particulares (Kielbassa et al., 1997; Kielbassa et al., 2002; Soares et al., 2010).

É muito comum o desenvolvimento da cárie de radiação. Este tipo de cárie é mais predominante no terço cervical do dente (junção amelocementária), iniciando pela face vestibular e posteriormente pela lingual, progredindo então ao redor do dente, como uma lesão anelar, que pode levar à perda da coroa (Garone et al., 1990). Esta modificação está intimamente ligada às mudanças que ocorrem na composição química e propriedades mecânicas dos dentes, tais como: a desorganização ou perda de estruturas minerais e gradual desnaturação das fibrilas de colágeno; redução da microdureza de superfície e resistência à tração e à fratura (Kielbassa et al., 1997; Franzel et al., 2006; Fejerskov et al., 2008; Soares et al., 2010).

Neste contexto, torna-se importante avaliar a composição química e propriedades mecânicas da dentina cervical irradiada. A hipótese deste estudo é que a radioterapia irá influenciar na composição química e propriedades mecânicas da dentina humana cervical.

## **PROPOSIÇÃO**

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da radioterapia na composição química e propriedades mecânicas da dentina humana, variando:

### **I. Irradiação**

a. Grupo Controle - não irradiado (NR).

b. Grupo irradiado (IR).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### (1) Delineamento experimental

**Unidade experimental:** terceiros molares humanos extraídos.

**Fator em estudo:** Irradiação em dois níveis (não irradiado e irradiado).

**Variável resposta:** razão mineral/matriz (M:M), razão carbonato/mineral (C:M), razão amida I/amida III, razão amida I/CH<sub>2</sub>, nanadureza e módulo de elasticidade.

**Método de análise:** Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia Raman, e avaliação da Nanodureza e Módulo de Elasticidade (E) por meio de nanodurômetro.

**Método estatístico:** Os dados foram analisados primeiramente quanto à possibilidade de realização de análise paramétrica. Como todos apresentaram normalidade e homogeneidade utilizou-se Teste T para comparação entre os grupos Irradiado e Não Irradiado para cada metodologia utilizada.

### (2) Seleção, limpeza e armazenagem dos dentes

Após ter sido aprovado no comitê de ética em pesquisa com seres humanos da Universidade Federal de Uberlândia, sob registro na Plataforma Brasil dado por CAAE 49206815.7.0000.5152, foram coletados e selecionados 10 dentes terceiros molares humanos íntegros com indicação clínica de exodontia. Os dentes foram coletados nas Clínicas de Cirurgia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia. Posteriormente, foram limpos com curetas periodontais e submetidos à profilaxia com pedra-pomes e água, sendo então armazenados em água deionizada e destilada a temperatura de 4°C e trocada semanalmente (Figuras 1 e 2). Os dentes foram limpos e examinados sob microscópio estereoscópico (Leica MS5, LeicaMicroscopy Systems Ltd, Heerbrugg, Suíça) para evidência de cárie e outros defeitos estruturais.



**Figura 1** – Dentes armazenados em água deionizada e destilada.



**Figura 2** – Dentes terceiros molares hígidos coletados.

### (3) Grupos experimentais

Os 10 dentes selecionados foram divididos em 2 grupos experimentais para realização das metodologias propostas (Figura 3).

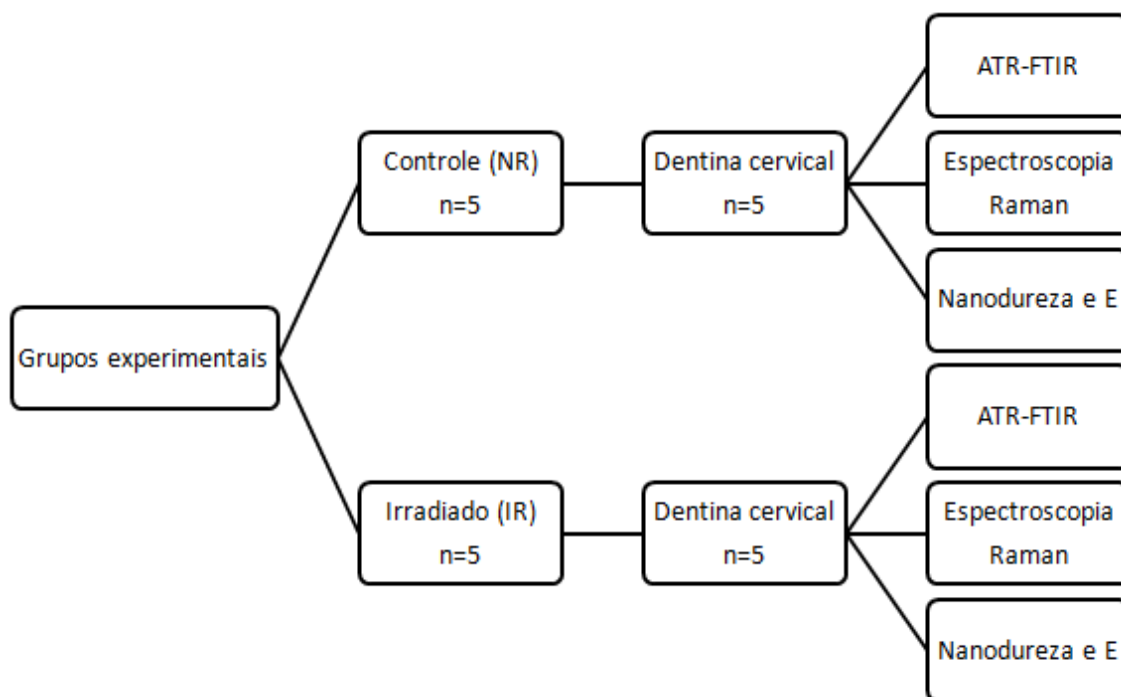


**Figura 3** – Grupos experimentais e metodologias propostas.

### (4) Irradiação dos dentes

Os dentes irradiados foram submetidos ao mesmo protocolo radioterápico utilizado pelos pacientes do Hospital do Câncer da Universidade

Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), com acelerador linear (Clinac 600C Varian® - Feixe de 6 MV) (Figura 4), 2 Gy diários, 5 dias por semana durante 35 dias, totalizando 70 Gy. Durante o momento irradiação os dentes ficaram em umidade relativa. E após, foram mantidos imersos em água deionizada e destilada, trocada semanalmente.



**Figura 4** – Acelerador linear para Radioterapia.

#### **(5) Preparo dos dentes**

Os dentes foram fixados em placa de acrílico com godiva em bastões (Kerr Corporation, CA, USA) (Figura 6) e seccionados com disco diamantado de dupla face (Extec, EUA), montado em cortadeira de precisão (Isomet 1000; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), sob refrigeração (Figura 7). O primeiro corte foi feito na junção amelocementária e em seguida foi feito um corte 2,5 mm abaixo da junção (Figura 8), obtendo uma porção do dente correspondente à região cervical (Figura 9). Posteriormente, outro corte foi realizado para remoção de esmalte, mantendo assim a porção de dentina em análise no estudo. E, por fim, foram feitos cortes nas porções de dentina, de modo a obter amostras de mesmas dimensões (4x4x3 mm) (Figura 10) para avaliação por meio das metodologias propostas (Figura 11). As análises metodológicas foram realizadas na superfície de dentina na região da junção, onde os túbulos dentinários estão perpendiculares. Todos os testes foram feitos na mesma amostra, sendo realizado o FTIR e o Raman primeiro por serem não destrutivos e posteriormente a nanodureza. Para isso, foram feitas marcações

com verniz nessa superfície para padronização. O preparo das amostras e metodologias propostas estão resumidos em esquema (Figura 12).

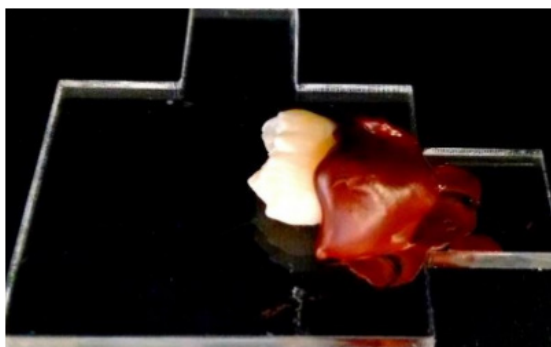


**Figura 6** – Dente posicionado na placa de acrílico preso com godiva.

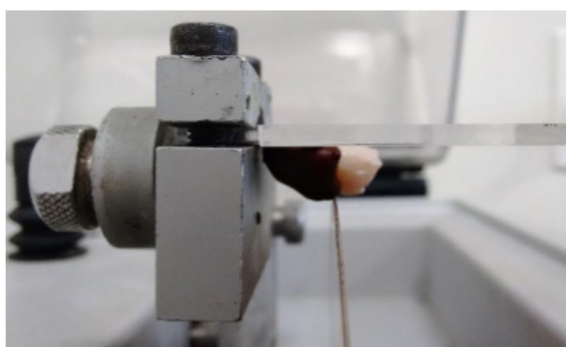


**Figura 7** – Dente posicionado na cortadeira de precisão.



**Figura 8** – Corte na porção radicular a 2,5 mm abaixo da junção.

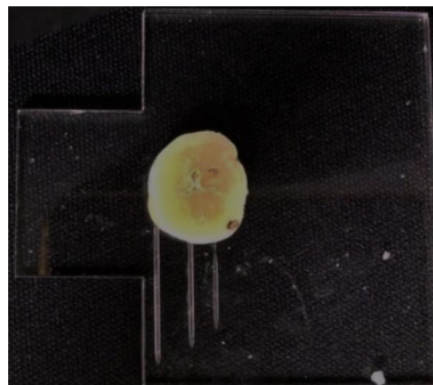


**Figura 9** – Porção de dente correspondente à região cervical.

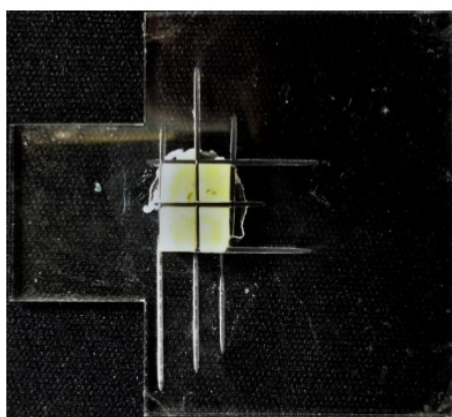


**Figura 10** – Amostras de dentina após remoção de esmalte.

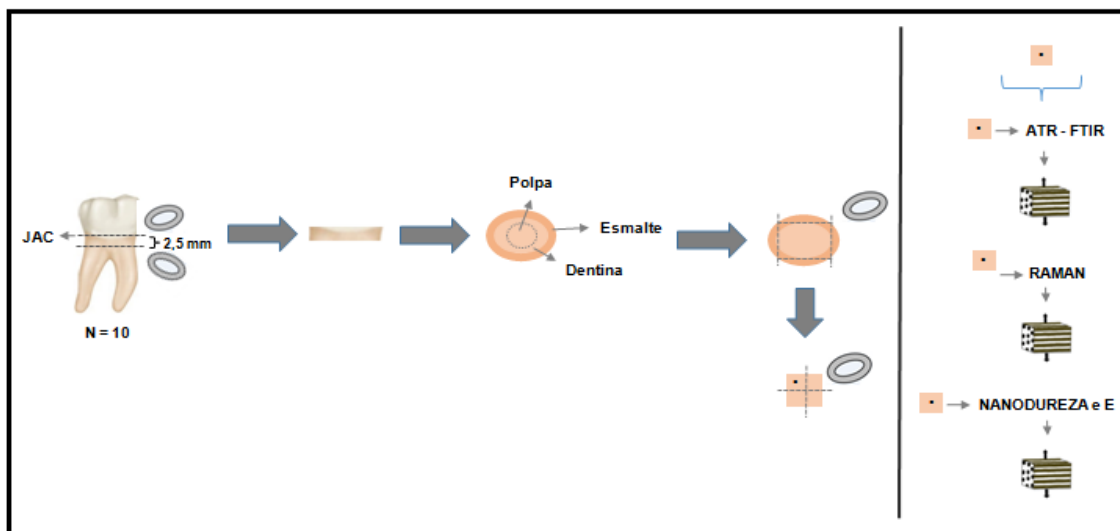


**Figura 12** – Preparo das amostras e metodologias propostas.

## (6) FTIR

A composição química dos grupos avaliados foi realizada por meio de Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR, Vertex 70 - Bruker, Ettlingen, Alemanha) com reflectância total atenuada (ATR). As superfícies de teste foram posicionadas contra o cristal de diamante da unidade ATR / FTIR e pressionadas com uma prensa/garra a uma pressão constante para facilitar o contato evitando variações ao longo da superfície (Figura 13). Cada amostra foi escaneada 32 vezes em cada medida FTIR, e o espectro adquirido é a média de todas essas varreduras ao longo de um intervalo de comprimento de onda de  $4.000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$  com uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ . As bandas consideradas para este estudo correspondem à constituição orgânica e inorgânica da dentina e foram analisadas: amida I ( $1815\text{ cm}^{-1}$  -  $1590\text{ cm}^{-1}$  / pico  $1655\text{ cm}^{-1}$ ), amida III ( $1351\text{ cm}^{-1}$  -  $1180\text{ cm}^{-1}$  / pico  $1235\text{ cm}^{-1}$ ),  $\text{CH}_2$  ( $1420\text{ cm}^{-1}$  -  $1480\text{ cm}^{-1}$  / pico  $1450\text{ cm}^{-1}$ ), fosfato ( $1181\text{ cm}^{-1}$  -  $886\text{ cm}^{-1}$  / pico  $1035\text{ cm}^{-1}$ ) e carbonato ( $920\text{ cm}^{-1}$  -  $820\text{ cm}^{-1}$  / pico  $872\text{ cm}^{-1}$ ) (Bachmann et al., 2005; Boskey et al., 2007; Botta et al., 2012). As intensidades das bandas foram determinadas após a realização de baseline correction e normalização. As posições dos centros e das larguras das bandas foram obtidas e as áreas foram calculadas de acordo com os seguintes parâmetros: (1) relação mineral / matriz (M: M), atribuído à vibração  $\nu_3$  do íon fosfato e ao alongamento  $\text{C} = \text{O}$

da amida de colágeno tipo I, respectivamente; (2) relação carbonato / mineral (C: M); (3) relação amida I / amida III; e (4) relação amida I / CH<sub>2</sub>, atribuído ao alongamento C = O da amida de colágeno tipo I e aos anéis de prolina e hidroxiprolina, respectivamente (T.Jiang et al., 2007; Y.Liu et al., 2014). Os espectros foram analisados pelo software OPUS 6.5 (Bruker, Ettlingen, Alemanha) (Figura 14).

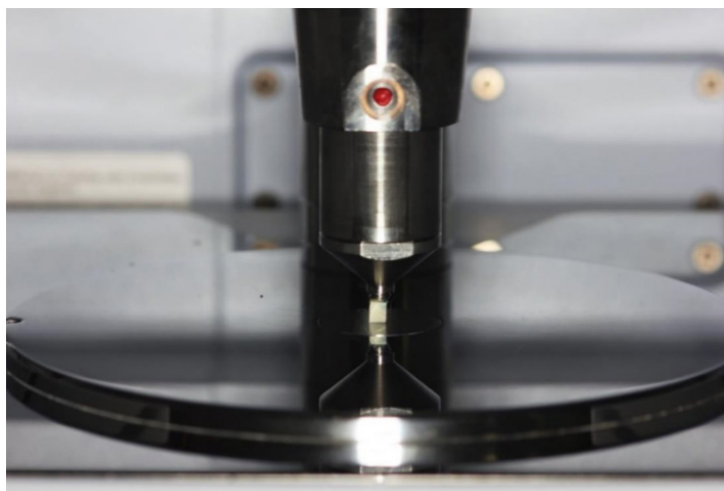


**Figura 13** – Análise do FTIR no Espectrofotômetro.

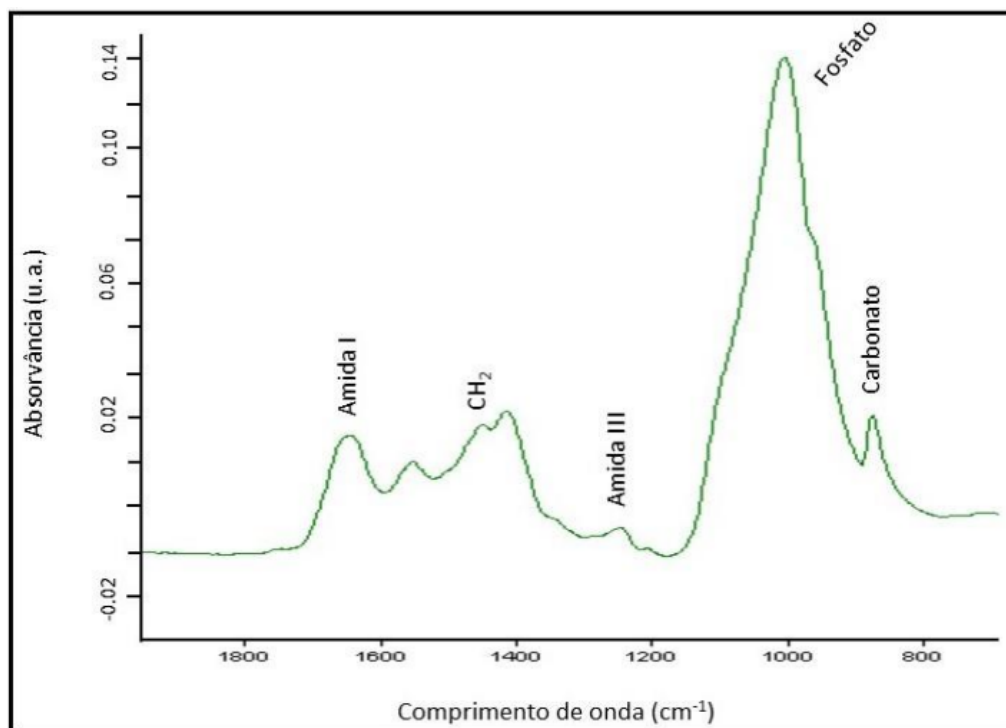


**Figura 14** – Exemplo de espectro obtido por meio do *software* OPUS 6,5 para a dentina do grupo controle.

## (7) Espectroscopia RAMAN

Para esta metodologia, contamos com o apoio do Instituto de Física da Universidade Federal de Uberlândia, onde foi utilizado um espectrômetro LabRam HR Evolution Raman (HoribaLabRam, Villeneuve d'Ascq, França) (Figura 15), operando com um poder de excitação de 20 mW com radiação emitida por um laser He-Ne (632,8 nm). O sinal Raman foi adquirido usando uma grade de 600 linhas / mm centrada entre 300 e 3.100  $\text{cm}^{-1}$  com um orifício confocal de 400  $\mu\text{m}$ . Foram obtidos cinco espectros Raman em cada amostra para evitar a possibilidade de erro, e posteriormente foi feita média entre os espectros. Um monitor de alta resolução permitiu a identificação visual da posição em que os espectros Raman foram coletados sob uma objetiva de 100x (Figura 16).

Foi utilizado o software OriginPro 7.5 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA) para analisar os dados adquiridos. Os espectros foram ajustados por correção de linha de base de ponto múltiplo manual. O pico vibracional  $\nu_1$  do fosfato a 960  $\text{cm}^{-1}$  foi selecionado como padrão interno para a normalização. O pico a 1.070  $\text{cm}^{-1}$  é atribuído à vibração  $\nu_1$  do grupo carbonato e o pico a 960  $\text{cm}^{-1}$  é atribuído à vibração  $\nu_1$  do grupo fosfato na hidroxiapatita. Os picos 1.246 / 1.270, 1.450 e 1.655 / 1.667  $\text{cm}^{-1}$  correspondem à amida III, CH<sub>2</sub> e amida I, respectivamente (M.Jastrzebska et al., 2003; C.Xu et al., 2011) (Figura 17).

Com base nos dados espectrais Raman, a proporção de fosfato  $\nu_1$  para amida I foi calculada para analisar as diferenças na relação mineral / matriz (M: M) dos espécimes. A proporção de carbonato a 1.070  $\text{cm}^{-1}$  a fosfato a 960  $\text{cm}^{-1}$  foi obtida para analisar diferenças na composição mineral (C: M). Para determinar a natureza do colágeno nos espécimes, foram calculados os seguintes índices: (1) amida I / amida III que diz respeito à organização do colágeno; e (2) amida I / CH<sub>2</sub> indica alteração da qualidade do colágeno (Salehi et al., 2013; Toledano et al., 2015).



**Figura 15** - Espectômetro Raman (LabRam HR Evolution Raman, Horiba).



**Figura 16** - Imagem da superfície de dentina observada no Raman.

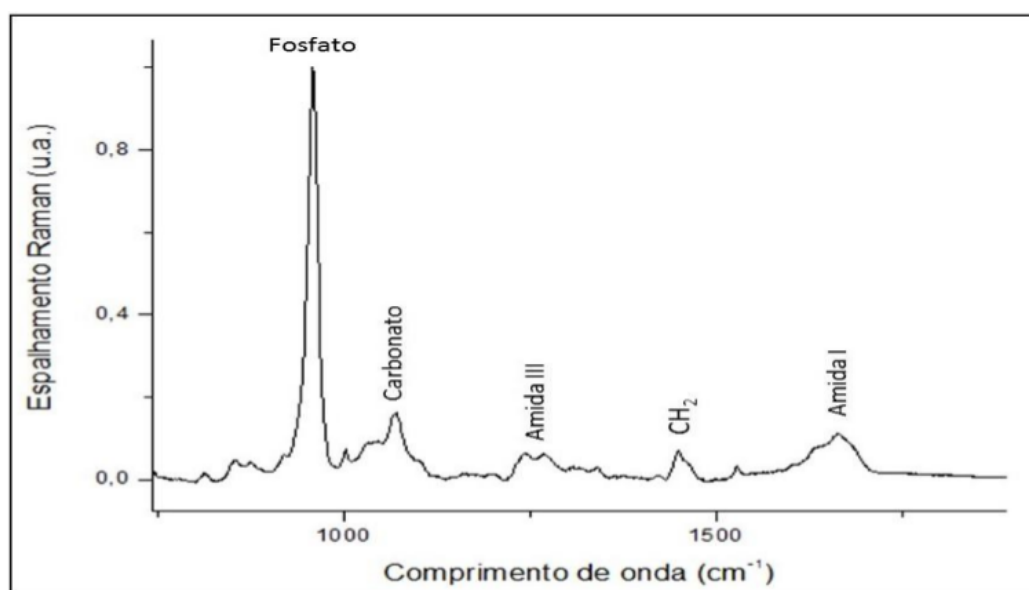


**Figura 17** - Exemplo do espectro Raman obtido com o software OriginPro 7.5 para a dentina do grupo controle.

## **(8) Nanodureza e Módulo de Elasticidade**

Para a realização dos padrões de nanodureza e módulo de elasticidade, contamos com o poio do Instituto de Física da Universidade Estadual de Ponta Grossa – PR, onde foi utilizado o aparelho nanodurômetro ASMEC – Advanced Surface Mechanics GmbH (Grupo Zwick Roell, Oliver & Pharr, 2004, Alemanha), com um indicador piramidal de base triangular de ponta de diamante Berkovich (Figuras 18 e 19).

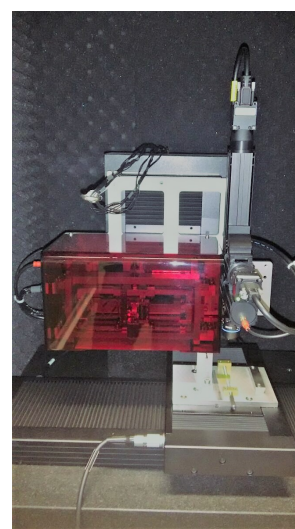
Previamente ao ensaio, as amostras foram incluídas em uma placa de acrílico e cera para posterior polimento (Figura 20). A inclusão foi feita seguindo um mapeamento esquematizado para padronização das amostras (Figura 21). O polimento foi realizado primeiramente com lixa d'água nº 800 (Norton S/A, Campinas, SP, Brasil), durante 3 minutos e irrigação constante. Em seguida com lixas d'água nº 1200 e 1500 (Norton S/A, Campinas, SP, Brasil), durante 5 minutos e irrigação constante. E por fim, lixa d'água nº 2000 (Norton S/A, Campinas, SP, Brasil) com pastas diamantadas metalográficas 1 e  $\frac{1}{4}$  (Arotec, São Paulo, SP, Brasil), durante 5 minutos com cada pasta (Figuras 22, 23 e 24). Após cada sessão de polimento, as amostras foram imersas em água em Ultra-Som para remoção de resíduos durante 5 minutos (Figuras 25 e 26).

Um ciclo completo de aplicação de força com cargas e descargas variando entre 0,3 e 15 mN foi realizado. Para se ter um conjunto representativo, foram feitas 12 indentações por amostra separadas 50  $\mu\text{m}$  entre si. As cargas lineares começaram a operar com força de 0,3 mN, atingindo 15mN em aproximadamente 130 segundos, após 50  $\mu\text{m}$ , seguindo a direção da ponta (Figura 27). As penetrações da ponta foram monitorados antes, durante e depois do zero. Os perfis de carregamento e a recuperação elástica que ocorreram durante as indentações foram determinadas, tendo em conta a topografia de superfície original.

As amostras foram então incluídas com cera em placas de aço e em uma esteira de corrimento para leitura no aparelho (Figura 28). Um monitor de alta resolução permitiu a identificação visual da posição em que as imagens

Raman foram coletadas sob uma objetiva de 100x. Os 12 pontos foram selecionados em uma região onde não havia túbulos dentinários, para assim, não influenciar os valores de dureza, há uma distância de 50  $\mu\text{m}$  entre si (Figuras 29 e 30). As mensurações foram realizadas por um *software* do próprio aparelho conforme os valores padronizados para dentina.

Com base nos valores obtidos, o próprio programa efetua a média entre as 12 indentações, excluindo aquelas que tiveram valores muito discrepantes da maioria, dando assim os valores de dureza e módulo de elasticidade em uma escala nanométrica (Figura 31).



**Figuras 18 e 19** - Aparelho nanodurômetro ASMEC – Advanced Surface Mechanics GmbH (Grupo Zwick Roell, Oliver & Pharr, 2004, Alemanha)



**Figura 20** – Amostras incluídas em cera de abelha.

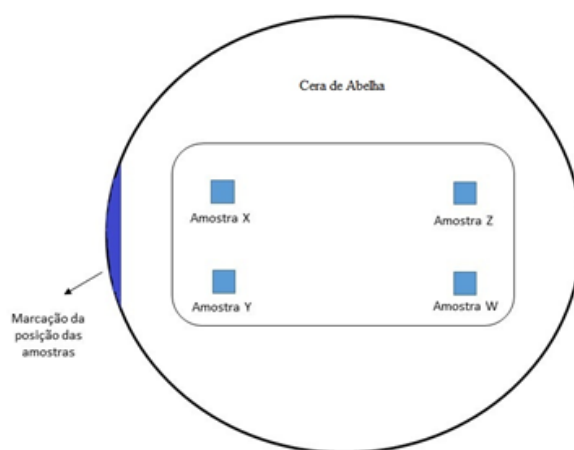


**Figura 21** – Mapeamento esquematizado para padronização das amostras.



**Figura 22** – Lixas D'água.

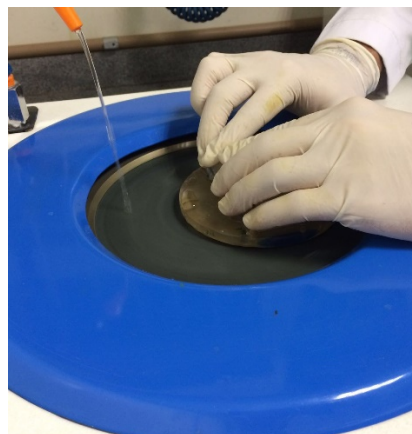


**Figura 23** – Polimento.

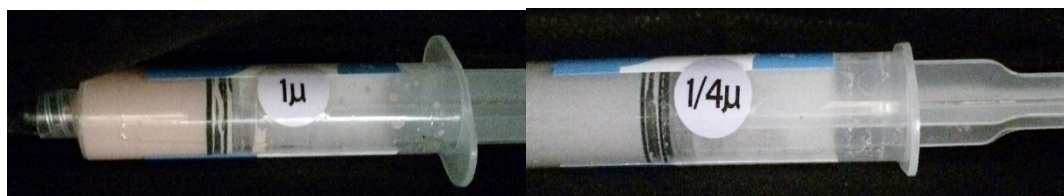


**Figura 24** – Pastas diamantadas metalográficas.



**Figura 25** – Aparelho Ultra-som.

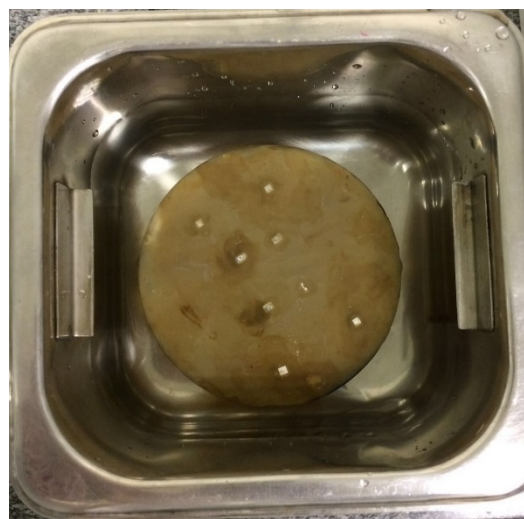


**Figura 26** – Amostras em Ultra-som para remoção de resíduos.

Approach

0

0

64

0

0.05

Linear

All equal

All equal

All equal

All equal

All equal

All equal

Cycles

1

Increase per cycle

Relative (%)

Absolute (mN)

10

Decrease to

Relative (%)

Absolute (mN)

10

☐ Hold period in every cycle

Modify cycles

| Type         | Cycle | Force (mN) | Time (s)  | Rate (Hz) | Points    | Dwell (s) | Progress M... |
|--------------|-------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------|
| Approach     | 0     | 0.000      | undefi... | 64        | undefi... | 0.05      | Linear        |
| Find Surf... | 0     | 0.300      | 3.00      | no        | 10        | 0.15      | Linear        |
| Load         | 1     | 15.000     | 20.00     | no        | 30        | 0.50      | Quadratic     |
| Creep        | 1     | 15.000     | 30.00     | no        | 30        | 0.80      | Linear        |
| Unload       | 1     | 1.500      | 15.00     | no        | 25        | 0.50      | Linear        |
| Hold         | 1     | 1.500      | 60.00     | no        | 50        | 0.90      | Linear        |
| Final Unl... | 0     | 0.120      | 3.00      | no        | 10        | 0.15      | Linear        |

**Figura 27** – Valores padronizados para aplicação de carga.

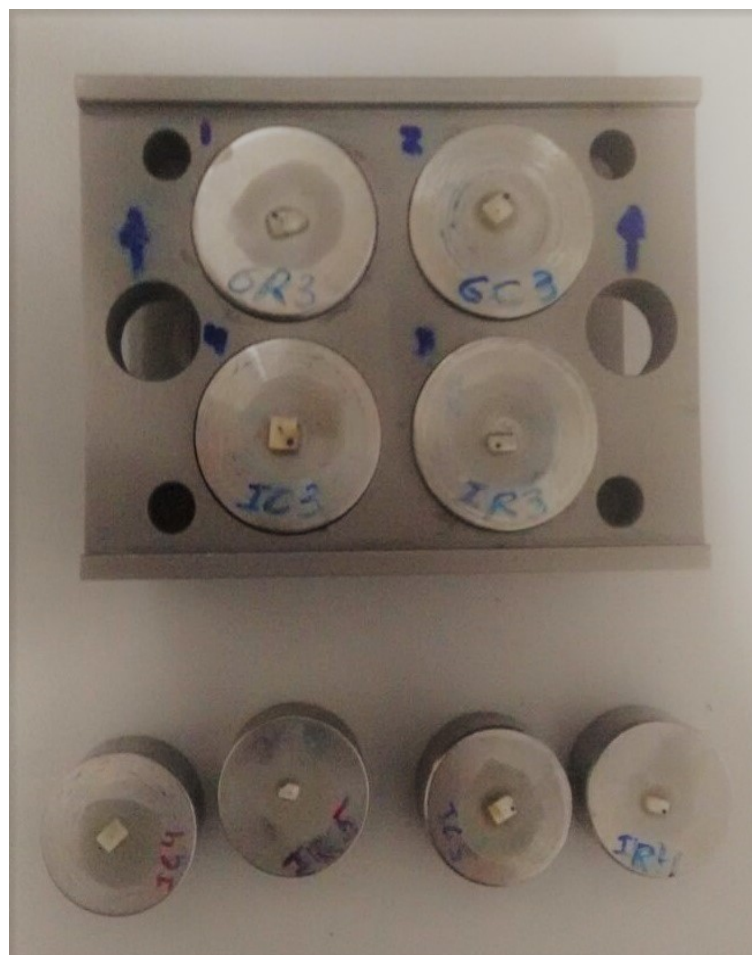


**Figura 28** – Amostras incluídas para leitura no nanodurômetro.

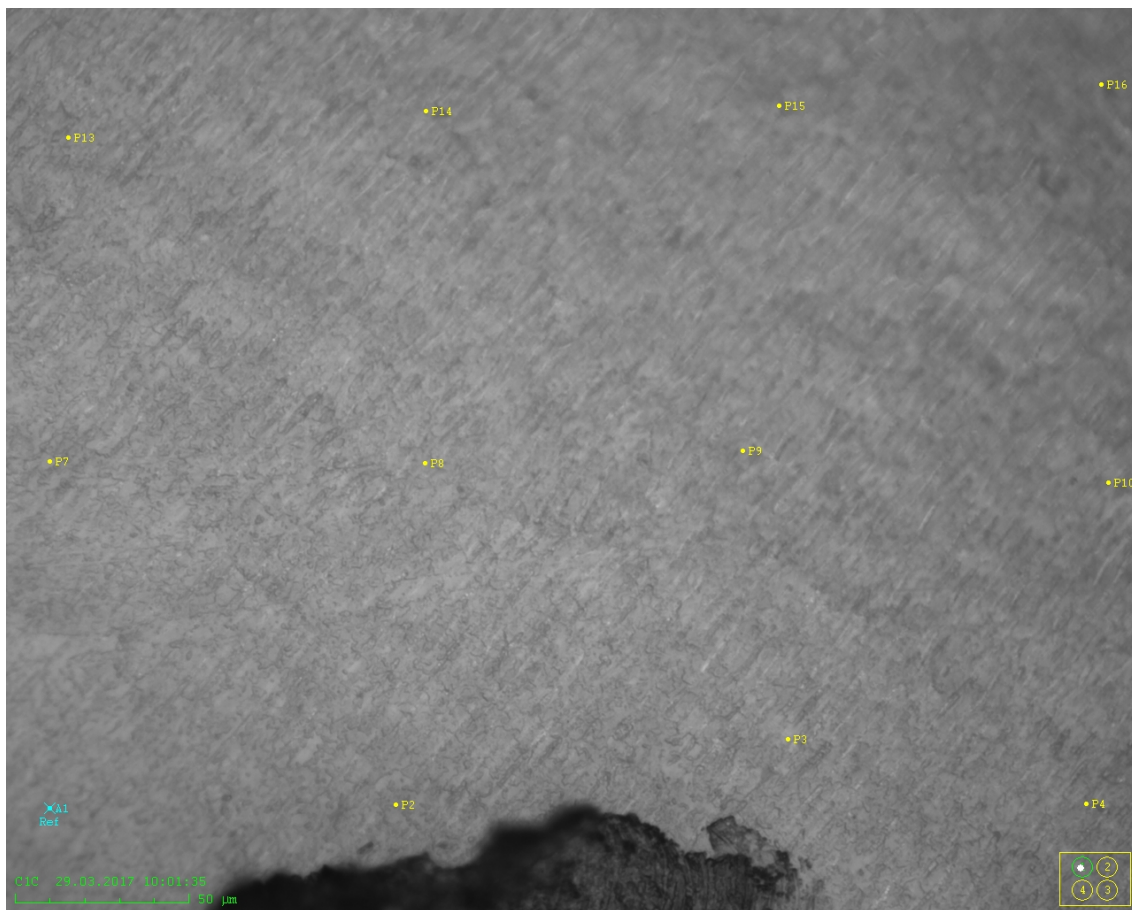


**Figura 29** – Imagem da superfície de dentina observada no nanodurômetro e os pontos de indentação demarcados.

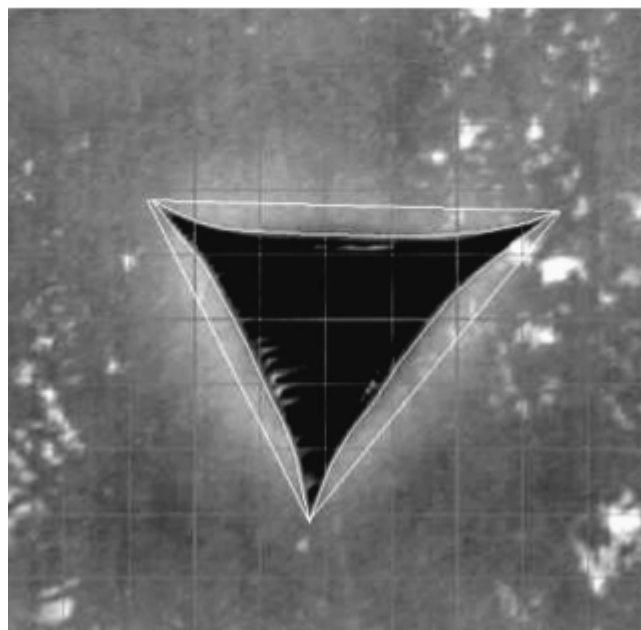


**Figura 30** – Exemplo de uma indentação.

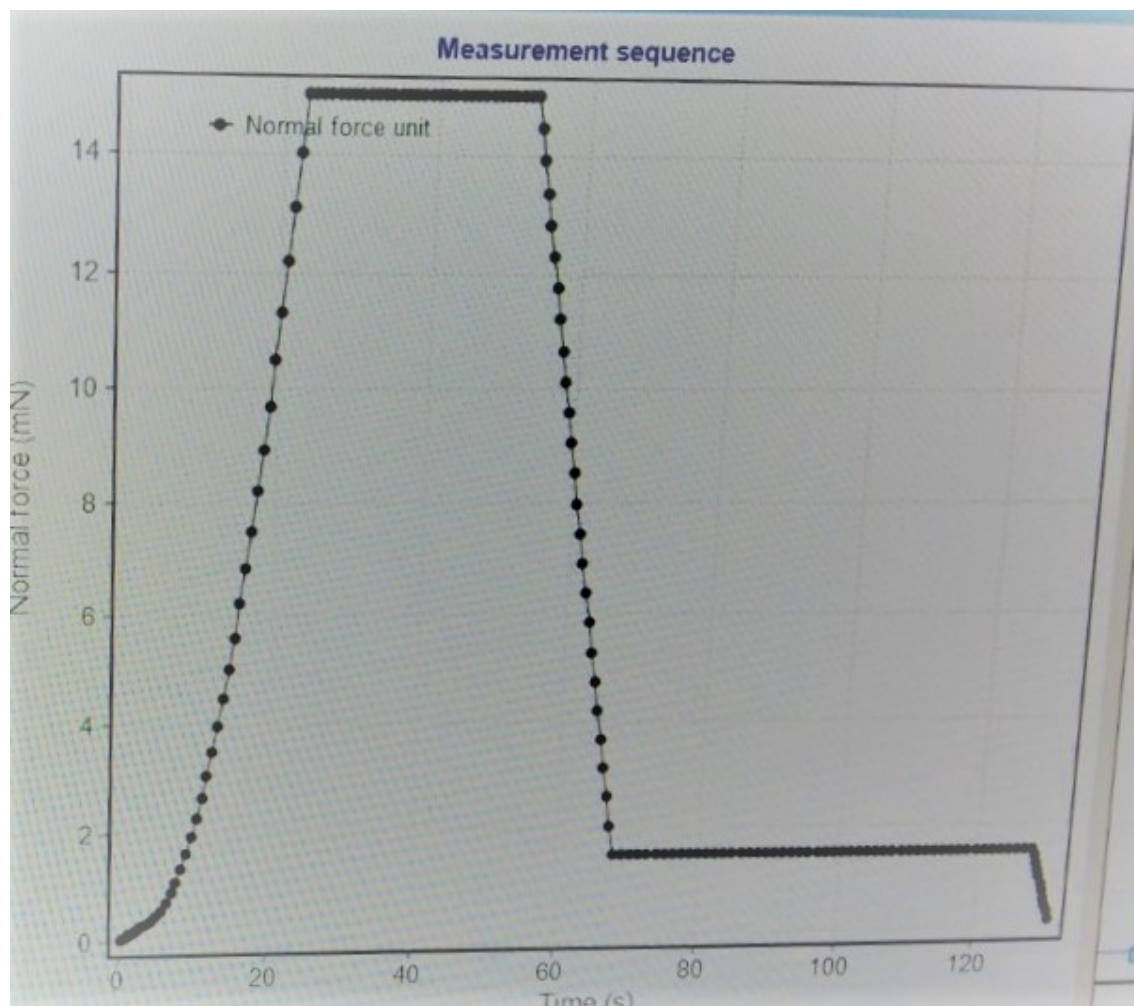


**Figura 31** – Exemplo de um gráfico de aplicação de força x tempo para determinação da dureza e módulo de elasticidade.

### (9) Análises Estatísticas

Os dados foram avaliados quanto à distribuição normal (Shapiro-Wilk,  $p > 0,05$ ) e teste de igualdade de variâncias (teste de Levene,  $p > 0,05$ ), seguido do teste estatístico paramétrico Teste T, comparando grupo Irradiado e Não Irradiado. Empregou-se um nível de significância de  $\alpha=0,05$ . Foi utilizado o programa estatístico Sigma Plot versão 12.0 (Systat Software, Inc., San Jose, CA 95110 EUA).

## RESULTADOS

### (1) Análise Química

#### FTIR

As médias das áreas individuais de cada banda avaliada no FTIR estão apresentadas na Tabela 1. Observa-se que o grupo irradiado apresentou valores maiores das áreas, com exceção da banda do carbonato.

Médias e desvio padrão para as razões avaliadas no FTIR são apresentados na Tabela 2. Não houve diferença estatística para a razão M: M ( $p = 0,255$ ) e nem para a razão amida I/CH<sub>2</sub> ( $p=0,918$ ). Para a razão C:M, houve diferença estatística ( $p = 0,004$ ), bem como a razão Amida I/amida III ( $p = 0,007$ ). Observou-se que o grupo irradiado apresentou valores mais baixos das razões em relação ao grupo controle, independentemente da significância estatística.

**Tabela 1.** Médias das áreas integradas de cada componente químico avaliado pelo FTIR

|                  | Amida I | Amida III | CH <sub>2</sub> | Fosfato | Carbonato |
|------------------|---------|-----------|-----------------|---------|-----------|
| <b>Controle</b>  | 1,43    | 0,19      | 0,15            | 13,35   | 0,37      |
| <b>Irradiado</b> | 1,62    | 0,25      | 0,17            | 13,62   | 0,31      |

**Tabela 2.** Médias (desvio padrão) para as razões dos parâmetros avaliados pelo FTIR

|                  | Razão Fosfato/<br>Amida I | Razão<br>Carbonato/<br>Fosfato | Razão<br>Amida I/<br>Amida III | Razão Amida<br>I/CH <sub>2</sub> |
|------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| <b>Controle</b>  | 9,54 (1,78) A             | 0,028 (0,001) A                | 7,35 (0,46) A                  | 9,59 (1,06) A                    |
| <b>Irradiado</b> | 8,43 (0,95) A             | 0,022 (0,002) B                | 6,03 (0,66) B                  | 9,50 (1,54) A                    |

*Letras diferentes mostram diferença estatística na vertical*

## RAMAN

As médias das áreas individuais de cada banda avaliada no Raman estão apresentadas na Tabela 3. Observa-se que o grupo irradiado apresentou maiores valores para os componentes orgânicos e uma estabilidade em comparação com o grupo controle para os componentes inorgânicos.

Média e desvio padrão para as razões avaliadas no Raman estão apresentadas na Tabela 4. A razão M:M mostrou diferença estatística ( $p < 0,001$ ), enquanto que a razão C:M não mostrou diferença estatística ( $p = 0,987$ ). As razões Amida I/Amida III e Amida I/CH<sub>2</sub> apresentaram significância estatística ( $p < 0,001$ ).

**Tabela 3.** Médias das áreas integradas de cada componente químico avaliado pelo Raman

|                  | Amida I | Amida III | CH <sub>2</sub> | Fosfato | Carbonato |
|------------------|---------|-----------|-----------------|---------|-----------|
| <b>Controle</b>  | 0,07    | 0,05      | 0,07            | 1       | 0,17      |
| <b>Irradiado</b> | 0,12    | 0,07      | 0,06            | 1       | 0,17      |

**Tabela 4.** Média (desvio padrão) para as razões dos parâmetros avaliados pelo Raman

|                  | Razão<br>Fosfato/<br>Amida I | Razão<br>Carbonato/<br>Fosfato | Razão<br>Amida I/<br>Amida III | Razão Amida<br>I/CH <sub>2</sub> |
|------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| <b>Controle</b>  | 14,22 (1,38) A               | 0,175 (0,004) A                | 1,28 (0,10) B                  | 0,91 (0,014) B                   |
| <b>Irradiado</b> | 8,14 (0,63) B                | 0,175 (0,009) A                | 1,71 (0,16) A                  | 2,15 (0,12) A                    |

*Letras diferentes mostram diferença estatística na vertical*

## (2) Análise Mecânica

### NANODUREZA E MÓDULO DE ELASTICIDADE

Médias e desvio padrão para os parâmetros mecânicos obtidos pelos ensaios de nanodureza e módulo de elasticidade são mostrados na Tabela 5. Houve diferença estatística para nanodureza ( $p = 0,03$ ), no qual o grupo irradiado apresentou valores mais baixos. No entanto, não houve diferença estatística para o módulo de elasticidade ( $p = 0,213$ ).

**Tabela 5.** Média e desvio padrão para as análises de Nanodureza e Módulo de Elasticidade

|                  | Nanodureza    | Módulo de Elasticidade |
|------------------|---------------|------------------------|
| <b>Controle</b>  | 0,59 (0,02) A | 19,94 (1,75) A         |
| <b>Irradiado</b> | 0,55 (0,02) B | 18,40 (1,85) A         |

*Letras diferentes mostram diferença estatística na vertical*

## DISCUSSÃO

A hipótese do presente estudo foi aceita, uma vez que a irradiação foi capaz de alterar a composição química das amostras de dentina da região cervical e isso comprometeu seu comportamento mecânico. A cárie relacionada à radiação ocorre de forma a circundar a área cervical dos dentes, o que leva a crer que esta área é mais susceptível à sua formação (Walker et al., 2011). Após a realização de radioterapia, é possível observar alterações na translucidez e na cor dos dentes, por meio de pigmentação marrom das superfícies cervicais do esmalte e da dentina e um aumento da friabilidade, com consequente perda de estrutura dentária na mesma região (Kielbassa et al., 1997; Kielbassa et al., 1999; Kielbassa et al., 2006). A literatura mostra que mudanças induzidas pela radiação na estrutura colágena pode potencialmente impactar a estabilidade da junção amelocementária, levando a delaminação do esmalte após o tratamento (Reed et al., 2015). Além disso, há perda de colágeno tipo IV em dentes submetidos à radioterapia, e este representa um

mecanismo de instabilidade da junção amelocementária (McGuire et. al., 2014). Todas essas alterações tornam os dentes irradiados mais susceptíveis ao acometimento de cárie na região cervical (região de junção), e por isso a importância de estudar o comportamento da dentina neste local específico.

As metodologias empregadas, FTIR e Raman, são metodologias capazes de avaliar a composição química, orgânica e inorgânica de um material (Bistey et al., 2007). Já a Nanodureza e Módulo de Elasticidade avalia o comportamento mecânico (Franzel et al., 2009). Assim, os métodos são complementares de forma a nos fornece informações importantes para se compreender melhor o que acontece no tecido dentinário.

A Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR) é a medida da intensidade da absorção de luz infravermelha e por uma amostra dada em determinado comprimento de onda. A luz infravermelha tem energia suficiente para alterar a vibração das moléculas a níveis de energia mais elevados (Tolstoy et al., 2003). Especificamente em sólidos, esses efeitos - cujas energias estão na região do infravermelho - influem diretamente nas condutividades elétrica e térmica do material, além de nos fornecerem valiosas informações sobre as condições estruturais e composicionais do objeto de estudo. Tipicamente, os modos vibracionais ópticos de um sólido estão localizadas na faixa do espectro eletromagnético correspondente à radiação infravermelha. Daí a justificativa para a utilização desse tipo de radiação em experimentos de espectroscopia de absorção óptica que objetivem obter informações sobre os modos vibracionais de materiais (Martin, 1980).

Já o chamado Espalhamento Raman acontece quando uma onda eletromagnética atinge a superfície de um meio e uma fração da luz é refletida enquanto que o resto é transmitido para dentro do material. Da parcela da radiação transmitida através da superfície, uma fração desta é absorvida na forma de calor e a outra é retransmitida na forma de luz espalhada. A luz emergente apresenta em seu bojo uma pequena parcela composta de frequências diferentes daquela incidente. Com o Raman, é possível traçar um gráfico que relaciona as intensidades relativas dos picos dos espectros com cada energia da radiação com a qual a amostra foi excitada. O máximo dessa

curva mostrará qual energia de excitação produz a maior intensidade de espalhamento, fornecendo, portanto, a diferença de energia entre dois estados possíveis. Como consequência, essa curva de ressonância confere à espectroscopia Raman uma possibilidade de se determinar as energias das transições eletrônicas de materiais a partir de seus espectros vibracionais (Long, 1977).

Como é possível notar, os processos físicos envolvidos são diferentes entre estas duas metodologias (Zieba-Palus et al., 2006). Apesar de serem baseadas em processos de interação entre radiação e matéria, cada uma dessas técnicas é fundamentada em um fenômeno físico diferente. Apesar das duas metodologias abrangerem comprimentos de onda iguais, há uma diferença na interação com a matéria, fazendo com que esses métodos de análise sejam complementares quando da análise química mais aprofundada das amostras (Qing et al., 2016).

A Nanoindentação é um termo usado para designar experiências de indentação onde cargas muito baixas são usadas para pressionar uma superfície dura de maneira controlada. Como características importantes do processo, a carga aplicada, o deslocamento do indentador e o tempo são registrados continuamente durante a experiência. Devido à sua versatilidade, a nanoindentação é um dos métodos mais importantes para obter as propriedades mecânicas nas regiões próximas da superfície e pode ser aplicado a praticamente todos os tipos de materiais sólidos. Esta técnica, possibilita a aferição de profundidade e resolução de carga, o que é muito útil para correlacionar o comportamento mecânico em nanoescala com a estrutura do material (Lepienski et al., 2003).

Os testes convencionais de Vickers e Brinell usam a imagem de indicação para medir a área de contato necessária para calcular a dureza. Ao contrário disso, em nanoindentação, a área de contato é obtida a partir dos dados de carga e deslocamento registrados em um ciclo de carga-descarga completo, sem a necessidade de métodos de imagem. Se forem realizadas análises mais elaboradas, outras propriedades mecânicas, como o módulo de

elasticidade, tensões residuais na superfície, deformação, entre outros, podem também ser determinadas (Lepienski et al., 2003).

No presente trabalho foram utilizados dentes irradiados *in vitro*, uma vez que ao sofrer radiação direta, é possível avaliar de forma isolada os efeitos causados na composição química e comportamento mecânico da dentina, sem interferências como pH, xerostomia e dieta dos pacientes (Lieshout & Bots, 2014; Jawad et al., 2015). Todos os dentes selecionados receberam 70 Gy no total da radiação, fraccionados em 2,0 Gy diários. Esse protocolo é o utilizado para tratamento de pacientes com câncer na região de cabeça e pescoço, em vários centros de tratamento. A partir de 30 Gy, o dano à estrutura dentária é irreversível, sendo que à medida que aumenta a dose de radiação, aumentam-se também as sequelas orais da radioterapia (Gonçalves et al., 2014; Mellara et al., 2014; Liang et al., 2016).

Durante todo o estudo, as amostras foram mantidas em água deionizada, trocada semanalmente, a fim de evitar a incorporação de novos íons e componentes químicos às mesmas. Em pesquisas com espectroscopias FTIR e Raman a água deionizada parece ser o melhor meio de armazenamento, já que ela passa por um processo de purificação no qual é feita a remoção total de íons e eliminam-se minerais, metais e outros contaminantes (Jiang et al., 2007; Ferreira et al., 2016). Além disso, estudos anteriores também indicaram que a matriz orgânica da dentina pode permanecer química e mecanicamente estável, mesmo após longos períodos de armazenagem em água deionizada (Carvalho et al., 2000; Carrilho et al., 2005).

Ao avaliar os resultados das análises químicas, pode-se observar que ambas as metodologias mostraram diferenças nos valores das áreas individuais ao observar grupo irradiado e grupo controle. Observam-se valores maiores para as áreas dos grupos irradiados para os componentes orgânicos, tanto para FTIR como Raman, com exceção do CH<sub>2</sub> na análise Raman. Isso acontece porque a radioterapia provoca a quebra das moléculas de água, formando radicais livres reativos, como oxigênio e peróxido de hidrogênio, que ao interagirem com as biomoléculas, causam danos celulares (Fang et al.,

2002). Este processo pode levar a uma desnaturação dos componentes orgânicos das estruturas dentinárias (Pioch et al., 1992). Assim a porção orgânica é mais propensa a apresentar alterações frente à radioterapia. Ocorre uma reorganização molecular e os radicais livres se ligam e formam novas moléculas organizadas (Gonçalves et al., 2014).

Em relação às razões avaliadas, observam-se algumas semelhanças entre os resultados do Raman e FTIR. A área da Amida I apresentou-se maior para o grupo irradiado. A amida I é a banda de absorção mais intensa nas proteínas e participa de quase todas as razões avaliadas. Em ambos os métodos, a razão amida I/amida III, que avalia alterações em relação à organização do colágeno, apresentou diferença estatística e mostrou que com a radioterapia, houve uma desorganização da estrutura (Toledano et al., 2015). Já as alterações na razão amida I/CH<sub>2</sub> indicam se há uma alteração na qualidade de colágeno (Salehi et al., 2013; Toledano et al., 2015). Como o colágeno é a proteína mais abundante da dentina (90%), sua degradação tem um impacto significativo na integridade estrutural deste tecido, o que pode ser observado em elementos dentários afetados por cárie que se tornam mecanicamente e funcionalmente comprometidos. Para esta razão, a metodologia Raman apresentou maior sensibilidade ao detectar diferenças entre os grupos, já na análise por FTIR não houve diferença significativa.

Em relação às razões que envolvem componentes inorgânicos, observa-se uma diminuição da razão fosfato/amida I, que está relacionada com a variação do valor de amida I, já que o fosfato manteve-se estável para ambas as análises. No FTIR observou-se valores mais baixos do carbonato e uma diferença significativa para a razão carbonato/fosfato, que se relaciona ao conteúdo mineral, apresentando diminuição com a radioterapia. Diante dessas alterações pode-se sugerir que a radiação induz alterações químicas na dentina, componentes orgânicos e inorgânicos se reestruturam aumentando a percepção de determinadas bandas e diminuindo de outras. Ainda é difícil explicar como essas alterações ocorrem, mas os resultados desse trabalho e a literatura comprova que elas existem (Reed et al., 2015; Qing et al., 2016). Já foi mosrado na literatura que pode ocorrer um descarboxilação das ligações

laterais do colágeno e isso justificaria as alterações na estrutura da dentina (Pioch et al., 1998). Além disso, a conformação de tripla hélice do colágeno super enrolada é sensível à diferentes níveis de radiação (Moscovich et al., 1999). Por isso, altas doses de energia, como a radiação, pode induzir alteração na estrutura do colágeno.

Como reflexo das alterações químicas, a estrutura dentinária também apresentou alteração na propriedade mecânica, diminuindo a nanodureza. Muitos trabalhos mostram uma diminuição da dureza frente à radioterapia (Gonçalves et al., 2014; Lieshout & Bots, 2014; Qing et al., 2016). No entanto ainda não há um consenso na literatura devido às diferentes metodologias e condições de ensaio (Lieshout & Bots, 2014). O colágeno contido na dentina é reforçado por depósitos minerais intrafibrilares, enquanto cada fibrila é cercada por depósitos minerais extrafibrilares (Hübner et al., 2005). Os minerais intrafibrilares que endurecem as fibrilas de colágeno dominam o comportamento elástico da dentina em condições normais de carga (Hübner et al., 2005). A irradiação com alta energia pode destruir os minerais intrafibrilares, e essa destruição pode tornar-se mais severa com o aumento da dose de radiação. Essa destruição e a alteração estrutural que ocorre na estrutura do colágeno estão relacionadas com a diminuição da nanodureza.

Já com relação ao módulo de elasticidade (E), ele representa a rigidez de um material (Zhang et al., 2014). Quanto menor o módulo de elasticidade, menos rígido será o material e maior é a sua capacidade de recuperação elástica (Kinney et al., 2003). Os resultados do presente estudo para esta propriedade não mostraram alteração significativa após a radioterapia. A dentina é um material não muito rígido pois apresenta muito material orgânico na sua composição. Apesar da alteração mostrada na estrutura orgânica, esta não foi capaz de alterar a rigidez da dentina.

Após a radioterapia, houve alterações na estrutura química e na propriedade mecânica de nanodureza da dentina. Esse dado deve sempre intrigar pesquisadores e clínicos que trabalham com esses pacientes, para que assim, cada vez mais, busquem meios que minimizem esses efeitos deletérios da radiação e criem alternativas preventivas e restauradoras que sejam

eficientes para reabilitar esses pacientes. Estudos clínicos de acompanhamento longitudinal são necessários para demonstrar melhor os riscos dessas complicações juntamente com os fatores externos relacionados às alterações da dieta dos pacientes, pH bucal e hipossalivação.

Todos esses fatores contribuem para o acometimento de cárie nesses pacientes, e a alteração da estrutura potencializa o desenvolvimento da doença, causando uma destruição severa dos dentes pela cárie de radiação. A prevenção e o tratamento contínuo após a radioterapia se tornam uma questão prioritária para as próximas pesquisas, buscando devolver qualidade de vida aos pacientes com câncer de cabeça e pescoço.

## CONCLUSÃO

Com a realização deste trabalho pode-se concluir:

- A radioterapia foi capaz de alterar a organização e qualidade do colágeno.
- Raman e FTIR apresentaram-se como metodologias complementares para avaliar composição química da dentina cervical;
- A radioterapia alterou a propriedade mecânica de nanodureza da dentina cervical.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrews N, Griffiths C. Dental complications of head and neck radiotherapy: Part 1. **Aust Dent J**. 2001;46:88-94.

Anneroth G, Holm LE, Karlsson G (1985). The effect of radiation to the teeth. **Int J Oral Surg** 14:269–274.

Aoba T, Takahashi J, Yagi T, Doi Y, Okazaki M, Moriwaki Y (1981). High-voltage electron microscopy of radiation damages in octacalcium phosphate. **J Dent Res** 60:9549.

Avery JK. Desenvolvimento e histologia bucal. 3 ed. Porto Alegre: **Artmed**, Liv. Santos, 2005.

Baker DG (1982). The radiobiological basis for tissue reactions in the oral cavity following therapeutic x-irradiation. A review. **Arch Otolaryngology** 108:21-4.

Bachmann L, Diebolder R, Hibst R, Zezell DM. Changes in chemical composition and collagen structure of dentine tissue after erbium laser irradiation. **Spectrochimica Acta Part A**. 2005;61:2634–2639.

Beumer J, Curtis ThA, Marunick MT (1996) Maxillofacial rehabilitation, prosthodontic and surgical considerations, 1st edn. **Medico Dental Media International**, pp. 43–71.

Bistey T, Nagy IP, Simó A, Hegedus C. In vitro FT-IR study of the effects of hydrogen peroxide on superficial tooth enamel. **J Dent**. 2007;35(4):325- 30.

Boskey A, Pleshko Camacho N: FT-IR imaging of native and tissue-engineered bone and cartilage. **Biomaterials** 2007; 28:2465-2478.

Botta SB, Ana PA, Santos MO, Zezell DM, Matos AB. Effect of dental tissue conditioners and matrix metalloproteinase inhibitors on type I collagen microstructure analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy. **Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater**. 2012;100B:1009–1016.

C. Xu, Y. Wang, Cross-linked demineralized dentin maintains its mechanical stability when challenged by bacterial collagenase, **J Biomed Mater Res B ApplBiomater**. 96(2) (2011) 242-248.

Carrilho MR, Tay FR, Pashley DH, Tjäderhane L, Carvalho RM. Mechanical stability of resin-dentin bond components. **Dent Mater**. 2005;21(3):232-41.

Carvalho RM, Tay F, Sano H, Yoshiyama M, Pashley DH. Long-term mechanical properties of EDTA-demineralized dentin matrix. **J Adhes Dent**. 2000;2(3):193-9.

Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. **Nutrition**. 2002;18(10):872-9.

Fejerskov O, Kldd E. Cárie Dentária - A doença e seu tratamentoclínico. São Paulo: **Editora Santos**, 2005.

Ferreira EMS, Soares LES, Antunes HE, Uemura ST, Barbosa PS, Salmon Jr HA, et al. Effect of therapeutic doses of radiotherapy on the organic and inorganic contents of the deciduous enamel: an in vitro study. **Clin Oral Invest.** 2016;20(8):1953-61.

Franzel W, Gerlach R, Hein HJ, Schaller HG (2006). Effect of tumor therapeutic irradiation on the mechanical properties of teeth tissue. **Z Med Phys** 16:148-54.

Garone, N. M.; Biagione, M. A. A Radioterapia e a Cárie. **Rev. Fac. Odont.** F.Z.L., v.2, n.1, p.51-58, jan./jun.1990.

Gonçalves L.M.N, Palma-Dibb R.G., Paula-Silva F.W.G, Oliveira H.F., Nelson-Filho P., Silva L.A.B., Queiroz A.M. Radiation therapy alters microhardness and microstructure of enamel and dentin of permanent human teeth. **Journal of Dentistry** 42 (2014) 986 – 992.

Hübner W, Blume A, Pushnjakova R, Dekhtyar Y, Hein HJ. The influence of X-ray radiation on the mineral/organic matrix interaction of bone tissue: an FT-IR microscopic investigation. **Int J Artif Organs.** 2005;28(1):66-73.

**INCA**, Radioterapia – Estimativa/1993

**INCA**, Incidência de Câncer no Brasil - Estimativa/2015.

Jansma J, Vissink A, Jongebloed WL, Retief DH, Johannes's Gravenmade E. Natural and induced radiation caries: a SEM study. **Am J Dent** 1993;6(3):130–6.

Jawad H, Hodson NA, Nixon PJ. A review of dental treatment of head and neck cancer patients, before, during and after radiotherapy: part 1. **Br Dent J.** 2015;218(2):65-8.

Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. (2008). Cancer statistics. **CA Cancer J Clin** 58:71-96

Jiang T, Ma X, Wang Y, Zhu Z, Tong H, Hu J. Effects of hydrogen peroxide on human dentin structure. **J Dent Res.** 2007;86(12):1040-5.

Jham BC, da AR SF (2006) Oral complications of radiotherapy in the head and neck. **Rev Bras Otorrinolaringol** 72(5):704–708.

Karmioli M, Walsh RF. Dental caries after radiotherapy of the oral regions. **J Am Dent Assoc** 1975;91(4):838–45.

Kielbassa AM, Beetz I, Schendera A, Hellwig E (1997). Irradiation effects on microhardness of fluoridated and non-fluoridated bovine dentin. **Eur J Oral Sci** 105: 444– 7.

Kielbassa AM, Hinkelbein W, Hellwig E, Meyer-Luckel H. Radiation-related damage to dentition. **Lancet Oncol** 2006; 7(4):326–35.

Kielbassa AM, Muntz I, Bruggmoser G, Schulte-Monting J (2002) Effect of demineralization and remineralization on microhardness of irradiated dentin. **J Clin Dent** 13:104–110.

Kielbassa AM, Wrbas KT, Schulte-Mönting J, Hellwig E. Correlation of transversal microradiography and microhardness on in situ induced demineralization in irradiated and non irradiated human dental enamel. **Arch Oral Biol**. 1999;44(3):243-51

Kinney JH, Marshall SJ and Marshall GW. The Mechanical Properties of Human Dentin: a Critical Review and Re-evaluation of the Dental Literature. **Crit Rev Oral Bio Med**. 2003;14(1):13-29.

Lee SK, Lee SW, Chung SC, Kim YK, Kho HS. Analysis of residual saliva and minor salivary gland secretions in patients with dry mouth. **Arch Oral Biol**. 2002;47:637-641.

Lepienski, C.M., Foerster, C.E. Nanomechanical Properties by Nanoindentation. Edited by **H. S. Nalwa** Volume X: Pages (1–20), 2003.

Liang X, Zhang JY, Cheng IK, Li JK. Effect of high X-ray irradiation on the nanomechanical properties of human enamel and dentine. **Braz Oral Res**. 2016;30:e9.

Lieshout HF, Bots CP. The effect of radiotherapy on dental hard tissue – a systematic review. **Clin Oral Invest.** 2014;18(1):17-24.

Long, D.A. Raman Spectroscopy (**McGraw-Hill**, London, 1977).

Lieshout HF, Bots CP. The effect of radiotherapy on dental hard tissue – a systematic review. **Clin Oral Invest.** 2014;18(1):17-24.

M. Jastrzebska, R. Wrzalik, A. Kocot, J. Zalewska-Rejdak, B. Cwalina, Raman spectroscopic study of glutaraldehyde-stabilized collagen and pericardium tissue, **J Biomater Sci Polym Ed.** 14(2) (2003) 185-197.

Martin, A.E. Vibrational Spectra and Structure Volume 8: Infrared Interferometric Spectrometers (**Elsevier**, Amsterdam, 1980).

Matos, I. S. et al. Avaliação do Fluxo Salivar em Pacientes Submetidos a Radioterapia de Cabeça e Pescoço. **Revista da Faculdade de Odontologia da UFBA**, v.14-15, p.6-10, jan./dez. 1994/1995.

McGuire JD, Mousa AA, Zhang BJ, Todoki LS, Huffman NT, Chandrababu KB, et al. Extracts of irradiated mature human tooth crowns contain MMP- 20 protein and activity. **J Dent.** 2014;42(5):626-35.

Mellara T.S., Palma-Dibb R.G., Oliveira H.F., Paula-Silva F.W.G., Nelson-Filho P., Silva R.A.B., Silva L.A.B., Queiroz A.M. The effect of radiation therapy on the mechanical and morphological properties of the enamel and dentin of deciduous teeth—an in vitro study. **Radiation Oncology** 2014, 9:30.

Moscovich H, Creugers NH, Jansen JA, Wolke JG. In vitro dentine hardness following gamma-irradiation and freezing. **J Dent.** 1999;27(7):503-7. doi:10.1016/S0300-5712(99)00005-6

Nanci A. Ten Cate histologia oral: desenvolvimento, estrutura e função. 8 ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2013.

Nutting CM, Morden JP, Harrington KJ, Urbano TG, Bhide SA, Clark C, Miles EA, Miah AB, Newbold K, Tanay MA, Adab F, Jefferies SJ, Scrase C, Yap BK, A'hern RP, Sydenham MA, Emson M, Hall E (2011) Parotid-sparing intensity

modulated versus conventional radiotherapy in head and neck cancer (PARSPORT): a phase 3 multicentre randomised controlled trial. **Lancet Oncol** 12(2):127–136.

Osailan S, Pramanik R, Shirodaria S, Challacombe SJ, Proctor GB. Investigating the relationship between hyposalivation and mucosal wetness. **Oral Dis**. 2011;17:109-114.

Pankhurst CL, Dunne SM, Rogers JO. Restorative dentistry in the patient with dry mouth: Part 2. Problems and solutions. **Dent Update**. 1996; 23(3):110-4.

Pioch T, Golfels D, Staehle HJ. An experimental study of the stability of irradiated teeth in the region of the dentinoenamel junction. **Endod Dent Traumatol**. 1992;8(6):241-4.

Qing P., Huang S., Gao S., Qian L., Yu H. Effect of gamma irradiation on the wear behavior of human tooth dentin. **Clin Oral Invest** 2016 DOI 10.1007/s00784-016-17315.

Reed R., Xu C., Liu Y., Gorski J.P., Wang Y., Walker M.P. Radiotherapy effect on nanomechanical properties and chemical composition of enamel and dentine. **Archives of Oral Biology** 60 (2015) 690 – 697.

Ruiz, M.T. et al. Epidemiologia e biomarcadores em câncer de cabeça e pescoço. **Arq Ciênc Saúde** 2006 jan-mar;13(1):34-8.

Salehi, H.E. Terrer, I. Panayotov, B. Levallois, B. Jacquot, H.Tassery, et al., Functional mapping of human sound and carious enamel and dentin with Raman spectroscopy. **J. Biophotonics**. 6(10) (2013) 765-774.

Sciubba JJ, Goldenberg D. Oral complications of radiotherapy. **Lancet Oncol**. 2006; 7(2): 175-83.

Seikaly H, Jha N, Harris R, Barnaby P, Liu R, Williams D, McGraw T, Rieger J, Wolfaardt J, Hanson J (2004) Long-term outcomes of submandibular gland transfer for prevention of postradiation xerostomia. **Arch Otolaryngol head Neck Surg** 130:956–961.

Silva ARS, Alves FA, Antunes A, Goes MF, Lopes MA (2009) Patterns of demineralization and dentin reactions in radiation-related caries. **Caries Res** 43:43–49.

Silveira, A. et al. Head and Neck Cancer: Health Related Quality of Life Assessment considering clinical and epidemiological perspectives. **Rev. bras. epidemiol. vol.15 no.1** São Paulo Mar. 2012.

Soares CJ, Castro CG, Neiva NA, Soares PV, Santos-Filho PCF, Naves LZ, et al (2010). Effect of Gamma Irradiation on Ultimate Tensile Strength of Enamel and Dentin. **J Dent Res** 89:159-64.

T. Jiang, X. Ma, Y. Wang, Z. Zhu, H. Tong, J. Hu, Effects of hydrogen peroxide on human dentin structure, **J Dent Res**. 86(12)(2007) 1040-1045.

Thylstrup, A.; Fejerskov, O. Tratado de cariologia clínica. 2.ed. São Paulo: **Santos**, 2001. Cap.18, p.367-381.

Toledano, F.S. Aguilera, E. Osorio, I. Cabello, M. Toledano-Osorio, R. Osorio, Functional and molecular structural analysis of dentine interfaces promoted by a Zn-doped self-etching adhesive and an in vitro load cycling model, **J MechBehav Biomed Mater**. 50 (2015) 131-149.

Tolstoy, V.P., Chernyshova, I.V., Skryshevsky, V.A. Handbook of Infrared Spectroscopy of Ultrathin Films (**Wiley-Interscience**, Hoboken, NJ, 2003).

Vissink A; Jansma J; Spijkervet FK; Burlage FR; Coppes RP. Oral sequelae of head and neck radiotherapy. **Crit Rev OralBiol Med** 2003;14(3):199–212.

Walker MP, Wichman B, Cheng A, Coster J, Williams K. Impact of radiotherapy dose on dentition breakdown in head and neck cancer patients. **Pract Radiat Oncol**. 2011;1(3):142-8.

Y. Liu, X. Yao, Y.W. Liu, Y. Wang, A Fourier transform infrared spectroscopy analysis of carious dentin from transparent zone to normal zone, **Caries Res**. 48(4) (2014) 320-29.

Zhang YR, Du W, Zhou XD, Yu HY. Review of research on the mechanical properties of the human tooth. **Int J Oral Sci** 2014;6:6169.

Zieba-Palus J, Kunicki M. Application of the micro-FTIR spectroscopy, Raman spectroscopy and XRF method examination of inks. **Forensic Sci Int.** 2006;158(2-3):164-72.

## ANEXOS



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Efeitos da radioterapia nas propriedades, composição e estrutura da dentina humana

**Pesquisador:** Veridiana Resende Novais

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 60743716.2.0000.5152

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Uberlândia/ UFU/ MG

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.766.494

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo laboratorial no qual serão avaliadas propriedades químicas, mecânicas e composição de dentes humanos irradiados in vitro.

De acordo com o descrito no projeto, a patogênese da cárie de radiação ainda é pouco estudada, ainda que seja uma lesão de natureza multifatorial. Em adição aos danos indiretos da radiação aos dentes, principalmente à participação das alterações quantitativas e qualitativas da saliva na patogênese da cárie de radiação, é necessário

também considerar os efeitos diretos da radiação sobre o esmalte, dentina e polpa como fatores importantes para a patogênese da cárie de radiação. Neste contexto, torna-se importante avaliar as propriedades físicas e químicas de dentes irradiados em diferentes momentos, assim como avaliar se o tempo pós irradiação, irá influenciar na mudança das propriedades dentinárias. É importante avaliar também possíveis alterações da morfologia, organização e composição do colágeno da dentina de dentes irradiados.

O estudo será feito em duas etapas distintas e sequenciais. Também serão avaliadas alteração da morfologia, organização e composição do colágeno da dentina de dentes irradiados.

Serão utilizados dentes terceiros molares hígidos, extraídos por indicação clínica, independente da pesquisa. Os dentes dos grupos irradiados serão submetidos ao protocolo radioterápico utilizado

**Endereço:** Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
**Bairro:** Santa Mônica **CEP:** 38.408-144  
**UF:** MG **Município:** UBERLÂNDIA  
**Telefone:** (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 1.766.494

pelos pacientes do Hospital do Câncer da Universidade Federal do Triângulo Mineiro a partir do equipamento acelerador linear (Acelerador Linear - Clinac 600C Varian® - Feixe de 6 MV), sendo os dentes irradiados com 2 Gy diários, 5 dias por semana durante 7 semanas, totalizando 70 Gy. No primeiro objetivo será avaliado o efeito do tempo pós radioterapia nas propriedades de dentes irradiados em diferentes momentos. Para isso dentes não irradiados (30), dentes irradiados imediatamente após o término da irradiação (n=30), dentes irradiados há 6 meses (n=30) e dentes irradiados há 18 meses (n=30) serão avaliados por meio de Microdureza Knoop, Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia Raman e Microscopia de Força Atômica. No segundo objetivo, será avaliada a alteração da morfologia e composição do colágeno em função da radioterapia. Para isso 80 dentes serão coletados e divididos aleatoriamente entre grupo irradiado e não irradiado (n=40). Em cada grupo serão feitas as seguintes avaliações: Quantificação da hidroxiprolina do colágeno; FTIR; Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET); microscopia Confocal e Zimografia.

**HIPÓTESE:** A primeira hipótese é que a radiação proveniente do acelerador linear e o tempo pós-radioterapia podem influenciar as propriedades mecânicas e composição química da dentina. A segunda hipótese é que a radioterapia altera a estrutura do colágeno da dentina irradiada.

**Critério de INCLUSÃO:** Dentes terceiros molares hígidos de pacientes com mais de 18 anos de idade.

**Crítérios de EXCLUSÃO:** Dentes que não sejam terceiros molares e dentes terceiros molares com presença de cáries, restaurações e/ou defeitos estruturais; Dentes de pacientes menores de idade.

**Desfecho Primário:** Avaliar o efeito do tempo pós-radioterapia nas propriedades da dentina humana irradiada e, a alteração da morfologia, organização e composição do colágeno da dentina de dentina irradiada in vitro.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

Segundo o projeto:

Avaliar o efeito do tempo pós-radioterapia nas propriedades da dentina humana e avaliar alteração da morfologia, organização e composição do colágeno da dentina de dentes irradiados.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Segundo os pesquisadores:

**RISCOS:** A coleta dos dentes será realizada pela pesquisadora-doutoranda após o atendimento clínico dos pacientes atendidos na FOUFU. Anteriormente à doação do dente, haverá o desconforto do procedimento cirúrgico de exodontia, para o qual será necessária anestesia e utilização de

**Endereço:** Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
**Bairro:** Santa Mônica **CEP:** 38.408-144  
**UF:** MG **Município:** UBERLÂNDIA  
**Telefone:** (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
UBERLÂNDIA/MG



Continuação do Parecer: 1.766.404

instrumental previamente esterilizado. Haverá o risco de detecção de complicações biológicas, como dor e sangramento, porém o participante será informado sobre a possível ocorrência e orientado a comparecer nos locais específicos de atendimento para que o tratamento seja instituído. O único risco é a identificação do participante de pesquisa no momento da coleta do dente, o que contraria a Resolução 466/12, porém a equipe executora se compromete em não revelar em nenhum momento da pesquisa a identidade dos participantes. Os dentes utilizados serão dentes com indicação clínica de exodontia e os participantes que concordarem farão a doação destes dentes por escrito ao assinarem o TCLE.

**BENEFÍCIOS:** Através deste trabalho, os pesquisadores buscam informações que podem vir a melhorar a condição de saúde dos pacientes que são submetidos à terapia de irradiação em câncer de cabeça e pescoço. Os resultados obtidos possibilitarão aos cirurgiões dentistas compreenderem de maneira mais aprofundada as alterações que ocorrem nos tecidos dentais após a radioterapia, e mostrar que o cuidado deve ser permanente em um paciente que fez tratamento de radioterapia. Isso poderá guiar os profissionais quanto à melhor forma de tratar e restabelecer a saúde bucal dos mesmos.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

- Foi apresentado o cálculo amostral para se chegar ao total de 200 dentes.
- Foi inserido o Instrumento para registro dos dados contendo informações sobre o participante importantes para o estudo, sem dados que permitam sua identificação.
- Foram apresentadas detalhadamente as etapas do estudo necessárias para atingir os objetivos.
- Foram apresentados os critérios para análise dos dados: Caso os dados das análises quantitativas apresentem distribuição normal será empregada ANOVA fatorial ( $\alpha=0,05$ ) e caso ocorra diferença, será empregado o Teste de Tukey. Caso não apresente distribuição normal, os dados serão analisados com teste não paramétrico de Kruskal Wallis. Será feita a análise qualitativa das imagens.

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os Termos foram apresentados, inclusive a Declaração de Instituição Co-Participante assinada pelo Responsável pelo Setor de Irradiação do Hospital do Câncer da Universidade Federal do Triângulo Mineiro.

#### Recomendações:

Considerando a metodologia do presente estudo, configura-se a criação de BIORREPOSITÓRIO. Diante disso o CEP/UFU solicita a submissão de uma NOTIFICAÇÃO para atender à Resolução CNS

**Endereço:** Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
**Bairro:** Santa Mônica **CEP:** 38.408-144  
**UF:** MG **Município:** UBERLÂNDIA  
**Telefone:** (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br



Continuação do Parecer: 1.766.404

441/11, que os pesquisadores encontram no site:  
<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2011/Reso441.pdf>

Elaborar um documento, assinado pelos pesquisadores, que atenda a resolução supracitada quanto à criação e gestão de um Biorrepositório para esta pesquisa que atenda os itens referentes a BIORREPOSITÓRIOS da Resolução CNS 441 de 2011.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

**ATENÇÃO PARA O ATENDIMENTO DO TÓPICO "RECOMENDAÇÕES" ACIMA!**

O projeto tem relevância acadêmica e respeita os princípios éticos da pesquisa com seres humanos.  
 Aprovado com RECOMENDAÇÕES.

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, o CEP manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto.

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Data para entrega de Relatório Parcial ao CEP/UFU: agosto de 2017.

Data para entrega de Relatório Final ao CEP/UFU: agosto de 2018.

**OBS.: O CEP/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEP PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.**

O CEP/UFU lembra que:

- a- segundo a Resolução 466/12, o pesquisador deverá arquivar por 5 anos o relatório da pesquisa e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo Participante da pesquisa.
- b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.
- c- a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFU dá-se em decorrência do atendimento a Resolução CNS 466/12, não implicando na qualidade científica do mesmo.

Orientações ao pesquisador :

**Endereço:** Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
**Bairro:** Santa Mônica **CEP:** 38.408-144  
**UF:** MG **Município:** UBERLÂNDIA  
**Telefone:** (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br



Continuação do Parecer: 1.766.494

- O Participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 466/12 ) e deve receber uma via original do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado.
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS 466/12), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante da pesquisa ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS 466/12). É papel de o pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprobatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res.251/97, item III.2.e).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento                                            | Arquivo                                      | Postagem               | Autor                   | Situação |
|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------|-------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto                            | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_755789.pdf | 05/10/2016<br>19:06:38 |                         | Aceito   |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                 | Projeto_de_Pesquisa.pdf                      | 05/10/2016<br>19:06:20 | Renata Borges Rodrigues | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE.pdf                                     | 03/10/2016<br>15:20:04 | Renata Borges Rodrigues | Aceito   |
| Folha de Rosto                                            | Folha_de_rosto.pdf                           | 30/09/2016<br>12:00:50 | Renata Borges Rodrigues | Aceito   |
| Outros                                                    | Declaracao_Irradiacao.pdf                    | 20/09/2016<br>08:42:10 | Renata Borges Rodrigues | Aceito   |
| Declaração de                                             | Solicitacao_do_pesquisador_para_Ins          | 12/07/2016             | Veridiana Resende       | Aceito   |

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
 Bairro: Santa Mônica CEP: 38.408-144  
 UF: MG Município: UBERLÂNDIA  
 Telefone: (34)3239-4131 Fax: (34)3239-4335 E-mail: cep@propp.ufu.br



Continuação do Parecer: 1.786.494

|                                            |                                 |                     |                          |        |
|--------------------------------------------|---------------------------------|---------------------|--------------------------|--------|
| Instituição e Infraestrutura               | tituicao.pdf                    | 11:17:57            | Novais                   | Aceito |
| Outros                                     | Lattes_pesquisadores.pdf        | 12/07/2016 11:15:13 | Veridiana Resende Novais | Aceito |
| Declaração de Pesquisadores                | Declaracao_pesquisadores.pdf    | 12/07/2016 11:14:11 | Veridiana Resende Novais | Aceito |
| Outros                                     | Instrumento_Coleta_de_Dados.pdf | 12/07/2016 11:13:13 | Veridiana Resende Novais | Aceito |
| Outros                                     | Calculo_amstral.pdf             | 12/07/2016 11:12:22 | Veridiana Resende Novais | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | Declaracao_FOUFU.pdf            | 12/07/2016 11:09:17 | Veridiana Resende Novais | Aceito |

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita apreciação da CONEP:**

Não

UBERLANDIA, 07 de Outubro de 2016

---

**Assinado por:**  
**Sandra Terezinha de Farias Furtado**  
 (Coordenador)

**Endereço:** Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica  
**Bairro:** Santa Mônica **CEP:** 38.408-144  
**UF:** MG **Município:** UBERLANDIA  
**Telefone:** (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br