



KARLA ROVARIS DA SILVA

**“ESTUDO DA ORGANIZAÇÃO DO COLÁGENO
E RESISTÊNCIA DO LIGAMENTO
PERIODONTAL EM INCISIVOS DE RATOS
IRRADIADOS”**

PIRACICABA

2013



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

KARLA ROVARIS DA SILVA

**“ESTUDO DA ORGANIZAÇÃO DO COLÁGENO E
RESISTÊNCIA DO LIGAMENTO PERIODONTAL EM
INCISIVOS DE RATOS IRRADIADOS”**

ORIENTADOR: Prof. Dr. PEDRO DUARTE NOVAES

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
APRESENTADA À FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA
UNICAMP PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO
DE MESTRA EM RADIOLOGIA
ODONTOLÓGICA, NA ÁREA DE
RADIOLOGIA ODONTOLÓGICA**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELA ALUNA KARLA ROVARIS DA SILVA,
E ORIENTADO PELO PROF. DR. PEDRO DUARTE NOVAES**

Assinatura do orientador

PIRACICABA

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
JOSIDELMA F COSTA DE SOUZA – CRB8/5894 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

Si38e Silva, Karla Rovaris da, 1987-
Estudo da organização do colágeno e resistência do
ligamento periodontal em incisivos de ratos irradiados / Karla
Rovaris da Silva. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Pedro Duarte Novaes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Radioterapia. 2. Colágeno. 3. Ligamento periodontal. I.
Novaes, Pedro Duarte, 1960- II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

Título em Inglês: Study of collagen organization and strength of the
periodontal ligament in rat incisors irradiated

Palavras-chave em Inglês:

Radiotherapy

Collagen

Periodontal Ligament

Área de concentração: Radiologia Odontológica

Titulação: Mestra em Radiologia Odontológica

Banca examinadora:

Pedro Duarte Novaes [Orientador]

Patrícia Meira Bento

Juliana dos Santos Neves

Data da defesa: 01-03-2013

Programa de Pós-Graduação: Radiologia Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 01 de Março de 2013, considerou a candidata KARLA ROVARIS DA SILVA aprovada.

Handwritten signature of Pedro Duarte Novaes in blue ink.

Prof. Dr. PEDRO DUARTE NOVAES

Handwritten signature of Patrícia Meira Bento in blue ink.

Profa. Dra. PATRÍCIA MEIRA BENTO

Handwritten signature of Juliana dos Santos Neves in blue ink.

Profa. Dra. JULIANA DOS SANTOS NEVES

Dedicatória

À minha família, que em todos os momentos me apoiou e me deu a confiança necessária para a realização dos meus projetos. Em especial aos meus pais Fernando e Miriam que me acompanham e me incentivam em todos os meus passos.

Especialmente ao meu orientador, professor Pedro, que em todos os momentos me recebeu pacientemente e me ajudou frente às minhas dificuldades.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, através da pessoa do diretor professor doutor **Jacks Jorge Júnior**.

Ao professor doutor **Francisco Haiter Neto** pela dedicação, atenção e principalmente pelo exemplo diário que nos passa.

Aos professores doutores do Departamento de Radiologia Odontológica, **Solange Maria de Almeida, Frab Norberto Bóscolo e Deborah Queiroz** pelos ensinamentos e pelo carinho com que nos passam.

Aos professores doutores **Patrícia Meira Bento e Ricardo Villar Beltrão**, pelo incentivo e por fazerem parte de toda minha formação em Radiologia.

Ao professor doutor **Sérgio Line**, pela ajuda, apreço e simpatia.

À professora doutora **Nádia Fayez**, pelo carinho e pela coorientação, por tornar esse trabalho possível.

À doutora **Juliana Neves**, pela ajuda e principalmente pela calma e boa vontade.

Aos funcionários **Luciane, Fernando e Waldeck** pela dedicação e boa vontade em nos atender.

À bióloga **Eliene Narvaes** e à técnica em Histologia **Maria Aparecida Varela**, por todo o aprendizado, paciência e principalmente pela receptividade e carinho.

Aos amigos **Karla, Larissa, Heloísa, Carolina, Laís, Gabriela, Germana, Bellisa, Allan, Thayse e Bárbara** pelo suporte e pela amizade.

Aos colegas da Radiologia **Débora, Gina, Thiago, Amanda, Laura, Maria Beatriz, Ana Caroline, Paulo, Rafaela, Ilana Sanamaika e Saione** e pelo convívio e momentos compartilhados.

Aos amigos **Sérgio, Karla e Phillipe**, pela irmandade.

Às amigas **Gabriella, Taruska, Anne** pela atenção, carinho e amizade.

Aos amigos **Yuri e Amaro** pela compreensão e paciência.

À **Maria Augusta, Liana, Helena e Matheus** pelo grande apreço.

Ao meu namorado **Rafael** pelo companheirismo e suporte inestimáveis.

A todas as pessoas que de alguma maneira contribuíram direta ou indiretamente para a execução deste trabalho.

A **Capes** pela concessão da bolsa de mestrado.

“Toda a sua cultura, todo o seu estudo de Shakespeare e de Wordsworth seriam vãos se, além de possuírem o conhecimento, vocês não desenvolvessem seu caráter e não dominassem seus pensamentos e suas ações.”

Mahatma Gandhi

RESUMO

Os efeitos adversos da radioterapia sobre os tecidos orais vêm sendo estudados com intuito de, cada vez mais, entender como esta age sobre o organismo, bem como para o desenvolvimento de métodos ou substâncias que visem à minimização dessas sequelas. Dentre os tecidos que estão na área de exposição, está o ligamento periodontal, que se afetado, pode ocasionar a perda dentária que impreterivelmente interfere na qualidade de vida do indivíduo. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da radiação ionizante sobre o ligamento periodontal do dente incisivo de rato *albinus wistar*, por meio da microscopia de polarização e do teste de força. A amostra constituiu-se de 30 ratos *albinus wistar* machos divididos em dois grupos, o grupo controle (15) e o grupo irradiado (15). O grupo irradiado foi submetido à sessão única de radioterapia com dose de 15Gy e após 14 dias todos os animais foram sacrificados. Um animal de cada grupo foi perdido durante a execução do trabalho. Desta forma, sete animais de cada grupo foram submetidos ao teste de resistência do ligamento periodontal e os sete restantes tiveram a organização do colágeno avaliada através da microscopia de polarização. Os resultados mostraram que ambos os testes apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,001$). Através dos coeficientes de correlação de Pearson encontrou-se também uma forte correlação entre os resultados dos testes (resistência/polarização) de cada grupo (controle/irradiado) ($R = 0,683$; $p < 0,001$). Portanto, concluiu-se que a radioterapia pode levar à diminuição da resistência à força de intrusão e provocou a desorganização do colágeno no ligamento periodontal.

Palavras-chave: ligamento periodontal, radioterapia, colágeno.

ABSTRACT

The adverse effects of radiotherapy on oral tissues have been studied in order to increasingly understand how it works on the body, as well as for the development of methods and substances aimed at minimizing these sequelae. Among the tissues that are in the exposition area, is the periodontal ligament which, when affected, can lead to tooth loss, that unfailingly interferes with quality of life. This study had as purpose to evaluate the effect of ionizing radiation over the periodontal ligament of the incisive tooth of the *albinus wistar* rat, trough the polarizing microscope and the strength test. The sample was composed of 30 *albinus wistar* male rats, separated into two groups, the control group (15) and the irradiated one (15). The irradiated group was subjected to an only session of radiotherapy, with a 15Gy dose, and after 14 days all the animals were sacrificed. One animal in each group was lost during the study's execution. Hence, seven animals of each group were subjected to the periodontal's ligament resistance test, and the seven remaining had their collagen organization evaluated trough the polarizing microscopy. The results showed that both tests exhibited statistically significance difference between the groups ($p < 0,001$). Using the Pearson correlation coefficients a strong correlation was also found between the tests results (resistance/polarizing) of each group (control/irradiated) ($R = 0,683$; $p < 0,0001$). Thereby, the conclusion was that radiotherapy can lead to a diminished resistance to the intrusion strength and to a disorganization of the periodontal's ligament collagen.

Keywords: periodontal ligament, radiotherapy, collagen.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
3. PROPOSIÇÃO	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	12
5. RESULTADOS	20
6. DISCUSSÃO	25
7. CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	31
ANEXO	40

1. Introdução

O termo câncer é utilizado genericamente para representar centenas de doenças, que têm em comum, o crescimento desordenado de células que invadem tecidos e órgãos, podendo espalhar-se para outras regiões do corpo. Dividindo-se rapidamente, essas células tendem a ser agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores ou neoplasias malignas (Ministério da Saúde, 2003).

Importante causa de doença e morte no Brasil, desde 2003, as neoplasias malignas representam quase 17% dos óbitos de causa conhecida. Segundo estimativas do INCA (Instituto Nacional de Câncer), para 2012 a previsão é que surjam cerca de 40 mil novos casos, dentre as regiões de: cavidade oral, laringe, sistema nervoso central e glândula tireóide (Estimativa: Incidência de câncer no Brasil, 2010).

São adotadas três modalidades principais para o tratamento dos neoplasmas malignos: cirurgia, radioterapia e quimioterapia. A forma de tratamento é determinada de acordo com a localização, tipo histológico da neoplasia, estadiamento clínico e condições físicas gerais do paciente. A cirurgia é o tratamento de escolha por permitir uma intervenção específica no tecido, enquanto a quimioterapia e a radioterapia atuam pela destruição ou pela inibição do crescimento das células que se multiplicam rapidamente, não diferenciando as células neoplásicas das células normais. (Vieira & Lopes, 2006; Sonis *et al.*, 1996).

A radioterapia é amplamente utilizada como eficaz forma de tratamento, de forma isolada ou associada à quimioterapia e/ou cirurgia (Otmami, 2007). É uma modalidade terapêutica que utiliza as radiações ionizantes com o objetivo de destruir as células neoplásicas, visando a redução ou o desaparecimento da neoplasia maligna (Lima *et al.*, 2001).

As células malignas e as células normais diferem pouco em sua resposta à radiação ionizante, sendo também afetadas durante o tratamento radioterápico.

Ambos os tipos de células são mais sensíveis durante a fase mitótica do ciclo celular, e menos sensíveis na fase de síntese de DNA (ácido desoxirribonucleico). Os tumores encontram-se habitualmente em maior proliferação celular, e, portanto, com maior número de células em mitose do que os tecidos normais e, conseqüentemente, sofrem maior dano pela radiação (Pinto & Leite, 1999). Vale salientar que as células presentes em tecidos de maior índice de proliferação, como é o caso do epitélio oral, também apresentam uma alta taxa mitótica e são gravemente atingidas pela radiação ionizante. (Neville, 2004).

Os efeitos adversos da radioterapia estão diretamente relacionados à área a ser irradiada. Se a radiação atingir a região de cabeça e pescoço, existe uma preocupação devido à alta porcentagem de complicações orais que podem ocorrer durante e/ou após o tratamento radioterápico, estas, sendo divididas em duas categorias: as complicações agudas (xerostomia, mucosite, disgeusia, disfagia) e as complicações tardias (osteorradionecrose, cárie de radiação, alterações dentárias e periodontais) (Hong *et al.*, 2010; Lima *et al.*, 2001; Gonçalves, 2001).

Dentre os tecidos do sistema estomatognático, têm-se evidenciado que o periodonto é sensível à radiação em altas doses. Os danos celulares que ocorrem podem levar à redução da celularidade dos tecidos, fibrose do tecido conjuntivo e alterações vasculares com espessamento da íntima, endoarterite e trombose. Os vasos sangüíneos do periodonto, periósteo e ligamento periodontal podem ser afetados. Essas alterações podem resultar em risco aumentado de doença periodontal e alteração no processo de reparo com diminuição na capacidade de remodelação óssea. Um aumento significativo de perda de inserção ocorre nos dentes localizados nas áreas submetidas à radiação ionizante. Também, após a radioterapia, observa-se maior perda de elementos dentários nos campos de irradiação (Epstein, 2002).

As estruturas periodontais expostas à radiação alteram-se macroscópica e microscopicamente e por isso é essencial manter uma meticulosa higiene bucal com o objetivo de minimizar os riscos de infecções ósseas e periodontais (Caielli & Martha, 1995).

A preservação da qualidade de vida do paciente que é submetido a alguma terapia antineoplásica é imprescindível e a manutenção dos tecidos orais em condições próximas a normalidade é um fator de grande importância no bem estar do indivíduo, considerando que essa região está diretamente relacionada à alimentação. Portanto, inicialmente é preciso entender o que a radiação provoca sobre os tecidos, para que posteriormente, substâncias radioprotetoras sejam desenvolvidas e testadas com o intuito de barrar ou até mesmo diminuir os efeitos adversos. Tendo em vista a escassez de trabalhos experimentais que avaliem especificamente a ação da radiação ionizante sobre o ligamento periodontal, este trabalho se propõe a estudar a ação da mesma sobre a organização do colágeno e a resistência das fibras do ligamento periodontal de incisivos de ratos *albinus wistar*.

2. Revisão da Literatura

2.1. Radioterapia

A radioterapia é uma das modalidades utilizadas no tratamento de tumores malignos, cujo agente terapêutico consiste na radiação ionizante, um tipo de radiação que provoca ionização e conseqüentemente a instabilidade elétrica no meio onde incide (Jham & Freire, 2006). A formação de átomos instáveis pode causar danos ao DNA celular, impedindo assim a replicação neoplásica. Isso acontece devido ao fato de elétrons livres, provenientes do processo de ionização, se unirem a outros átomos adjacentes, que também se tornam instáveis com cargas negativas aumentadas. Porém, o tratamento ionizante não é seletivo, por não possuir a habilidade de distinguir as células normais das células malignas o mesmo se torna tóxico para o organismo (Salazar *et al.*, 2008).

Por muitos anos a unidade de dose utilizada para se referir à medida de radiação ionizante aplicada ao paciente foi o rad (*radiation-absorbed dose*). Atualmente a unidade utilizada pelos radioterapeutas para realização dessa medida passou a ser o Gray (Gy) – em homenagem ao físico e radiobiólogo inglês L.H. Gray – $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rad} = 100 \text{ cGy}$ (centiGray). Em geral, a dose total, com finalidade terapêutica radical, é elevada e varia de 50 a 80 Gy (Niehoff *et al.*, 2008)

De um modo geral, a radioterapia pode ter três objetivos distintos: curativo, remissivo e sintomático. Quando o objetivo do tratamento é eliminar todas as células neoplásicas, diz-se que a radioterapia utilizada é de caráter curativo, quando se deseja reduzir parte do tumor ou complementar o tratamento cirúrgico ou quimioterápico, usa-se a remissiva; ao passo que, a finalidade sintomática das radiações é indicada nos casos de dor localizada (Salvajoli *et al.*, 1999).

A dose é geralmente administrada de forma fracionada, sendo o fracionamento convencional a modalidade mais utilizada. No esquema convencional os pacientes recebem fração diária de 1,8 a 2,0 Gy, uma vez ao dia, durante 5 dias na semana, por um período de 5 a 7 semanas de tratamento. A vantagem de se aplicar a dose fracionada da radiação é permitir que o tempo favoreça a reparação dos tecidos

saudáveis e que o tumor diminua seu volume lentamente (Rothwell, 1990; Salvajoli *et al.*, 1999; Lima *et al.*, 2001).

2.2. Efeitos adversos

Os efeitos adversos da radioterapia instituída para tratamento dos pacientes com câncer de cabeça e pescoço interferem significativamente na qualidade de vida desses indivíduos (Lazarus, 2006).

As reações adversas decorrentes do tratamento radioterápico dependem de diversos fatores, dentre eles do volume que será irradiado, se a exposição será uni ou bilateral, se a dose será total ou fracionada, além da idade, condições clínicas do paciente, hábitos sociais, como alcoolismo e tabagismo, e de tratamentos associados (Jisander *et al.*, 1997).

Entre esses efeitos indesejados, mais comuns, localizados na região de cabeça e pescoço, pode-se citar: mucosite, xerostomia, disgeusia (Jham & Freire, 2006), trismo (Bragante *et al.*, 2012).

A mucosite é um dos primeiros sinais clínicos que aparecem na cavidade oral durante a radioterapia, que consiste na inflamação da mucosa oral e caracteriza-se por edema, eritema e ulceração, além de dor e dificuldade para deglutir (Caielli & Martha, 1995).

A xerostomia é relatada pelo paciente como uma “sensação de boca seca” e também é percebida nas primeiras semanas de tratamento, quando altas doses (>60Gy) são administradas. Em determinados casos o dano provocado à glândula, pode se tornar irreversível (Caielli & Martha, 1995). Mudanças na qualidade e na quantidade de saliva acrescidas da ação direta da radiação sobre as papilas podem causar alterações ou diminuição da capacidade gustativa, denominadas disgeusia e hipogeusia, respectivamente. Este tipo de mudança pode acarretar a desnutrição do paciente, devido à perda do prazer em alimentar. Com o fim do tratamento, o comum é que o paladar volte ao seu estado de normalidade em alguns meses. (Cardoso *et al.*, 2005; Vissink *et al.*, 2003).

Rubira *et al.* (2007) avaliaram as sequelas bucais provocadas pela radioterapia em pacientes com neoplasia de cabeça e pescoço. Cem pacientes apresentando média etária de 59,2 anos foram examinados e receberam, cada um deles, uma média de dose total de 5.955cGy. A aferição do fluxo salivar estimulado e pHmetria foram os principais testes realizados, e detectaram um fluxo abaixo de 0.7ml/min e pH de 6.97. Concluíram que, como relatado pelos pacientes (68%), a sensação de boca seca, ou seja, diminuição da produção de saliva é o principal efeito adverso observado, tendo a disgeusia sido relatada por 30% dos pacientes.

O trismo radioinduzido também tem sido relatado na literatura. O mesmo ocorre devido à fibrose da musculatura mastigatória quando essa região se encontra no campo de radiação. Este fator tem influencia negativa na qualidade de vida do indivíduo, que poderá ter dificuldade para ingerir alimentos, falar e higienizar a cavidade oral (Kent, 2008). Bragante *et al.* (2012), em sua pesquisa, detectaram que pacientes com câncer de cabeça e pescoço apresentaram redução da abertura bucal no decorrer do tratamento radioterápico.

Almeida *et al.* (2004) avaliaram 30 pacientes portadores de câncer do tipo carcinoma, localizados na cavidade oral e na orofaringe, com o objetivo de detectar as sequelas provenientes da radioterapia. Os resultados revelaram que 75% dos pacientes irradiados desenvolveram trismo, 67% apresentaram mucosite, 33% tiveram carie de irradiação e 17% apresentaram redução no fluxo salivar.

Em 2006, Lopes *et al.* avaliaram por meio de radiografias panorâmicas, a prevalência de alterações dentárias em crianças, com média de idade de cinco anos, portadoras de câncer e tratadas com quimioterapia ou quimioterapia associada a radioterapia na região de cabeça e pescoço. Os pacientes que receberam quimioterapia associada à radioterapia apresentaram maior incidência de alterações (47%) do que aqueles que receberam apenas a quimioterapia (33%). As alterações mais comumente observadas foram a

microdontia (7%), macrodontia (5%), anodontia (6%), taurodontia (14%), além das alterações radiculares (6%).

Araújo (2010) comparou as taxas de erupção dentária de ratos *albinus wistar* irradiados e não irradiados, constatou que os animais que receberam uma dose única de 15 Gy sofreram uma desaceleração da erupção dentária a partir do sexto dia após a intervenção, bem como observou alterações nos padrões de formação e no tamanho do dente incisivo na região odontogênica.

2.3. Efeitos no ligamento periodontal

Observações realizadas em humanos e experimentos em animais indicam a incidência de efeitos adversos da radiação ionizante sobre o tecido periodontal. Em humanos as pesquisas se iniciaram pelo fato de a doença periodontal atuar como um meio de infecção que poderia influenciar no surgimento da osteorradionecrose. (Ellinger, 1957; Sfafne, 1947). A terapia por radiação pode resultar em alterações vasculares e celulares no periodonto, além de hipovascularidade, hipocelularidade e hipóxia no osso alveolar (Arcuri & Schneider, 1992; Wright, 1987).

Skougaard & Carsten (1978) com o objetivo de estudar o efeito do tempo e da dose de radiação sobre o metabolismo do colágeno da pele e do ligamento periodontal de ratos, submeteram 30 animais à radiação, metade da amostra foi sacrificada entre 30 e 49 dias do momento da radiação e o restante foi sacrificado após um ano. No ligamento periodontal dos animais do primeiro grupo foi observado um decréscimo na captação de aminoácidos, alteração essa que não foi observada nos animais do segundo grupo (um ano após a radiação), ou seja, os animais foram capazes de recuperar a habilidade de anabolismo do colágeno no ligamento periodontal após este período.

Frandsen (1962) avaliou a reação do ligamento periodontal de ratos *wistar* frente à radiação Roentgen. Para isto dois grupos foram criados: o primeiro grupo teve a cabeça inteira irradiada com doses de 1,000r, 2,000r e 3,000r e o segundo

grupo recebeu dose única de 1,725r e 2,400r administrada apenas na região dos dentes molares. Os animais foram observados num período de 2 a 58 dias após a irradiação, os animais do primeiro grupo que receberam 1,000r mostraram uma diminuição da celularidade do tecido, degeneração dos osteócitos e supressão da atividade dos osteoblastos e osteoclastos. Os que receberam 2,000r e 3,000r morreram entre 8 e 10 dias após a intervenção com diversas queimaduras na cavidade oral. Nos animais do segundo grupo foram observados dois tipos distintos de lesões periodontais, um apresentou severa destruição do periodonto, com ulcerações presentes na mucosa oral, o outro tipo mostrou uma menor severidade no tecido periodontal propriamente dito e consistiu em alterações na papila interdental, deficiência da resposta inflamatória, aglutinação do colágeno e supressão das funções osteoblásticas e osteoclásticas.

Epstein *et al.* (1998) propuseram determinar o impacto da radiação de cabeça e pescoço na progressão da perda de inserção periodontal. Para isto, 10 pacientes, com uma média de idade de 60.1 anos, que receberam radiação, unilateral em região dentada, foram avaliados antes e após o tratamento. As avaliações, dentária e periodontal, foram feitas por um único avaliador que detectou uma perda média de inserção de 2.81 mm para os dentes da região irradiada e 1.43 mm para os dentes da região não irradiada. O aumento da mobilidade dentária também foi observado nos dentes da área irradiada.

Marques & Dib (2004) avaliaram as mudanças periodontais em pacientes que receberam radiação na região de cabeça e pescoço. Os parâmetros para a avaliação foram: profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, recessão gengival, índice de placa e sangramento à sondagem. A amostra foi composta de 27 pacientes avaliados antes e após cerca de 6/8 meses após o tratamento. Dentre os aspectos avaliados, a maior discrepância foi encontrada no nível clínico de inserção, no qual 70.3% dos avaliados mostraram perda de inserção, sendo esta em 92% dos casos, situada na mandíbula.

Simon *et al.* (2011) com o objetivo de estimar os efeitos tardios da irradiação cervical na condição periodontal de pacientes com linfoma de Hodgkin, avaliaram

68 pacientes portadores da doença que foram irradiados, 64 pacientes portadores mas que não fizeram a irradiação cervical e 51 indivíduos sem a doença e que não receberam radiação ionizante (grupo controle). Dos avaliados, 23.5% dos irradiados, 18.15% dos não-irradiados e 17.64% dos controles relataram subjetiva xerostomia. A xerostomia foi classificada como subjetiva, pois a mesma não foi medida através de sialometria. O índice periodontal foi de 2.47, 2.42 e 2.14 respectivamente. Foi percebida uma diferença significativa entre os pacientes irradiados e os indivíduos do grupo controle quanto ao índice CPO (cariados, perdidos e obturados).

Faloni *et al.* (2005) ao revisarem a literatura e relatarem um caso clínico salienta que procedimentos periodontais são indispensáveis para a adequação do meio bucal do paciente previamente à radioterapia, tendo em vista que no caso apresentado o indivíduo mostraram condições periodontais estáveis durante o tratamento radioterápico, provavelmente devido ao acompanhamento do Cirurgião-dentista para a manutenção das condições ideais de higiene oral.

Escoda-Francolí *et al.* (2011) ao avaliarem as condições orais de pacientes em tratamento contra o câncer oral, afirmam que de 6 pacientes que se submeteram a radioterapia apenas 1 fez o tratamento dentário de adequação prévia. Constataram também que entre 12 pacientes que estavam em tratamento (cirurgia, quimioterapia e/ou radioterapia) 6 apresentavam doença periodontal ativa.

2.4. Características do dente incisivo e ligamento periodontal do rato *albinus wistar*

Os roedores possuem dentes incisivos de crescimento e erupção contínuos e para que isso seja possível, o órgão dentário permanece ativo durante toda a vida no animal e é responsável pela formação dos tecidos dentais e periodontais. Esses dentes apresentam-se revestidos de cemento e ligamento periodontal apenas nas faces mesial, lingual e distal, sendo a face vestibular ou bucal do

dente revestida por um tecido periodontal relacionado ao esmalte. No ligamento periodontal propriamente dito são observadas, através do microscópio de luz, duas regiões caracteristicamente distintas, a região adjacente ao cemento e a região adjacente ao osso (Beertsen & Everts, 1977).

A característica que distingue mais marcantemente as duas porções do ligamento periodontal dos ratos é a presença de vasos sanguíneos na região do ligamento mais próxima ao osso alveolar. Dentre essas faixas encontra-se a área intermediária, que devido ao metabolismo de crescimento contínuo é a que apresenta uma menor organização molecular (Komatsu *et al.*,2002). Sodek & Ferrier (1988) afirmam que o ligamento periodontal das extremidades próximas ao osso e ao dente é mais estável quando comparado à porção intermediária que sofre uma remodelação rápida e constante.

O alinhamento e conteúdo das fibras colágenas aumenta em direção à região incisal, quando comparada as regiões basais que estão mais próximas à região odontogênica. Segundo Chiba *et al.* (1990) e Komatsu (1998) isso resulta no aumento da força mecânica do ligamento nesta mesma direção, da região odontogênica à região incisal.

3. Proposição

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da radiação ionizante sob o ligamento periodontal do dente incisivo de rato *albinus wistar*, analisando:

- 1) Resistência das fibras do ligamento periodontal à força de intrusão, por meio de teste de força;
- 2) Organização do colágeno do ligamento periodontal, por meio da análise de birrefringência.

4. Material e métodos

Para a realização desta pesquisa, foram utilizados 30 ratos machos (*albinus wistar*), com idade entre oito e dez semanas, advindos do Biotério central da UNICAMP. Estes animais foram mantidos em gaiolas, em ambiente com temperatura e umidade controladas, e alimentados à base de ração apropriada e água *ad libitum*. A presente pesquisa somente foi iniciada após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Unicamp sob protocolo de nº 2531-1.

4.1. Grupos experimentais

Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos: Grupo controle (animais que não foram submetidos à radioterapia) e Grupo irradiado (animais submetidos à dose única de radioterapia de 15Gy na região de cabeça e pescoço).

A - Grupo controle: 15 animais.

B - Grupo irradiado: 15 animais.

4.2. Processo de irradiação

Anteriormente à realização do procedimento de irradiação dos animais, todos eles foram devidamente anestesiados, via peritoneal, com 80 mg/kg de Cloridrato de Ketamina (Dopalen[®], Agribands do Brasil Ltda, ∓; Paulínia, São Paulo, Brasil) e 8 mg/kg de Cloridrato de Xylasina (Rompum[®], Bayer S.A., São Paulo, SP, Brasil). Os animais do grupo irradiado (Grupo B) receberam dose única de 15 Gy de radiação X, a partir de um acelerador linear (Clinac 6/100[®], Varian) com distância focal de 1 metro (Figura 1). A colimação foi feita de forma que apenas a região de cabeça e pescoço fosse irradiada (Figura 2). Todos os animais foram sacrificados 14 dias após a irradiação. Um animal do grupo irradiado morreu antes do momento do sacrifício.

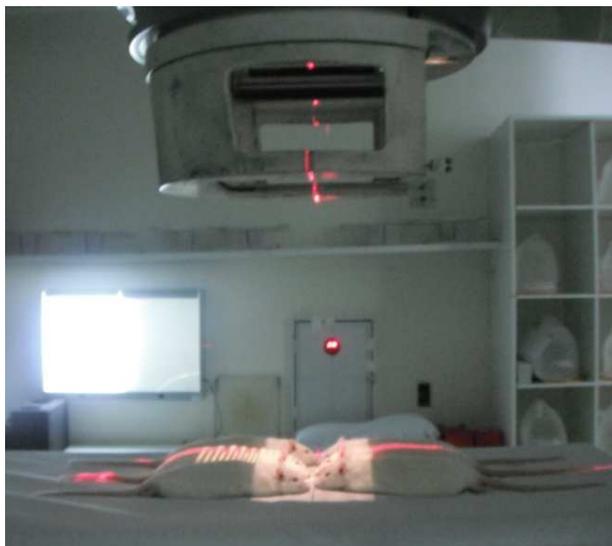


Figura 1 – Animais posicionados na mesa com distância focal de 1 metro.



Figura 2 – Colimação para cabeça e pescoço do animal.

4.3. Teste de força (Medição da força de resistência à intrusão)

Após o período experimental, 7 animais do grupo irradiado e 8 animais do grupo controle foram sacrificados por deslocamento cervical sob anestesia. As hemimandíbulas foram removidas e, utilizando a máquina de ensaio universal (Instron/ mod 4411, Massachusetts, USA) os incisivos inferiores foram intruídos no alvéolo até o rompimento das fibras de ancoragem, que ligam o dente ao osso alveolar no ligamento periodontal, determinando a força tênsil deste tecido (Figura

3 e 4). Este procedimento foi realizado em 14 hemimandíbulas do grupo irradiado e 16 do grupo controle, sendo que um par de hemimandíbulas do grupo controle foi excluído após ter sido comprometido durante o processo, totalizando ao final 14 hemimandíbulas para cada grupo. As medidas foram realizadas utilizando a máquina de ensaio universal, na grandeza de Newton/segundo, e anotadas para posterior análise estatística.



Figura 3 – Teste de força.

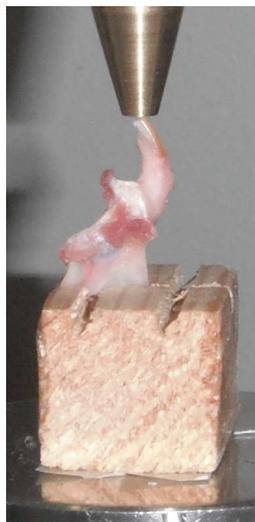


Figura 4 – Detalhe do teste de força.

4.4. Análise da organização do colágeno (Microscopia de polarização)

Os sete animais restantes de cada grupo (controle/irradiado) foram sacrificados por perfusão (Figura 5), utilizando o fixador de Karnovsky modificado em tampão fosfato (0,1M/ pH 7,3/ paraformaldeído 2%/ glutaraldeído 0,25%), e as hemimandíbulas removidas e armazenadas no fixador de imersão de Karnovsky modificado em tampão fosfato (0,1M/ pH 7,3/ paraformaldeído 4%/ glutaraldeído 0,5%). Após descalcificação em EDTA (Ácido Etileno Diaminotetracético) com concentração de 4,13%, um fragmento de cada hemimandíbula, correspondente à região adjacente a face mesial do 1º molar (Figura 6), foi desidratado em soluções crescentes de etanol. Em seguida realizou-se a diafanização e inclusão em Paraplast Plus: Tissue Embedding Medium® (McCormick TM Scientific, Leica Biosystems, St. Louis LLC, USA) e posteriormente o fragmento foi seccionado em cortes transversais com espessura de 10 µm utilizando um micrótomo Leica RM 2155 (Leica, Flüssigkeit, Germany), de acordo com o protocolo estabelecido pela disciplina de Histologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP.



Figura 5 – Sacrifício por perfusão com solução de Karnovsky.

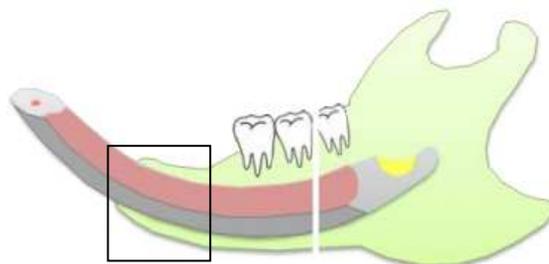


Figura 6 – Região mais anterior intraóssea do dente incisivo.

Após a desparafinização e hidratação dos cortes, os mesmos foram analisados utilizando microscopia de luz polarizada. As lâminas foram montadas em água como meio de embebição (de acordo com protocolo já estabelecido pelo mesmo laboratório) e após 30 minutos foi realizada mensuração de retardo ótico. Para cada animal foram criadas seis lâminas contendo, cada uma delas, 3 cortes. Ao final o melhor corte de cada lâmina foi escolhido e analisado. O ligamento

periodontal das faces mesial, lingual e distal foi analisado, na sua porção junto ao cimento e junto ao osso, utilizando o microscópio Leica DM LP (Leica Microsystems) equipado com: filtros de polarização, compensador Brace-Köhler (Wild Leitz, Wetzlar, Germany) e luz policromática. Em cada região selecionada, a medição foi realizada três vezes consecutivas e a média obtida foi utilizada nas análises estatísticas.

A análise realizada sob a luz polarizada permite a avaliação da birrefringência das fibras colágenas. Para tal, faz-se necessário a mensuração do retardo óptico do ligamento periodontal, que consiste no valor relativo entre o maior e o menor brilho de birrefringência do tecido. Para que a medição fosse feita de forma mais precisa, áreas restritas foram analisadas separadamente em seis pontos de cada corte, de modo a abranger o ligamento como um todo.

A figura 7 ilustra cortes transversais corados em HE da região de interesse. Apesar da análise de birrefringência do colágeno do ligamento periodontal (Figura 8) ter sido avaliada em seis áreas distintas, a análise estatística foi realizada baseando-se no agrupamento desses dados para melhor representação do ligamento periodontal como um todo.

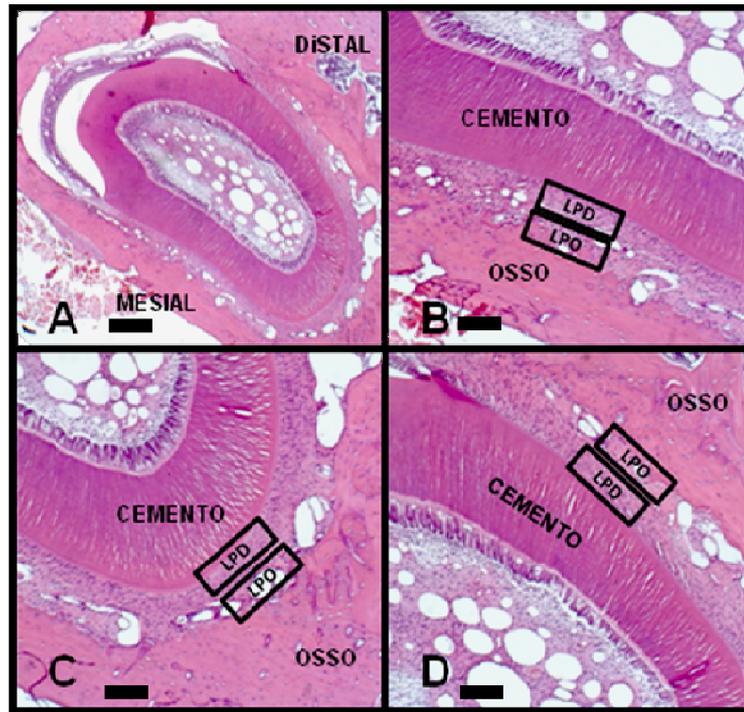


Figura 7 – Cortes transversais corados em HE da mandíbula do rato. **A** com aumento de 2,5x. **B** (mesial), **C** (lingual) e **D** (distal), em aumento de 10x, com retângulos localizando as porções do ligamento periodontal que foram analisadas. LPO – ligamento junto ao osso alveolar e LPD – ligamento junto ao cimento dentário.



Fig. 8 – Cortes transversais da mandíbula do rato sob a luz polarizada. **A** com aumento de 2,5x. **B** com aumento de 10x região lingual com brilho máximo. **C** com aumento de 10x região lingual com brilho mínimo.

4.5. Processamento dos dados

Os grupos foram comparados estatisticamente utilizando o teste t pareado de Student. Coeficientes de correlação de Pearson (R) foram calculados para detectar correlações estatísticas entre os índices de polarização e resistência. O nível de significância adotado para este estudo foi de 5% ($p < 0,05$). Os dados foram analisados usando o programa estatístico SigmaStat para Windows (versão 3.5; Systat Software Inc, Erkrath, Alemanha).

5. Resultados

Observou-se que os animais do grupo irradiado apresentaram alopecia (Figura 9) e perda de peso.



Figura 9 – Região de perda de pelo (alopecia).

Todos os animais foram pesados no dia da radioterapia e observou-se uma média de peso de 334 gramas. No momento do sacrifício todos os animais foram pesados novamente, a média de peso do grupo controle foi de 352 gramas, já a do grupo irradiado foi de 281 gramas, o que demonstra que os animais que sofreram a intervenção não só deixaram de ganhar peso como perderam cerca de 50 gramas do seu peso inicial.

Nas lâminas coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) (Figura 10) pôde-se observar uma aparente diminuição do número de células no ligamento peridodotal dos incisivos dos ratos irradiados, além de uma alteração na orientação das mesmas, as quais normalmente seguem uma orientação paralela as fibras colágenas.

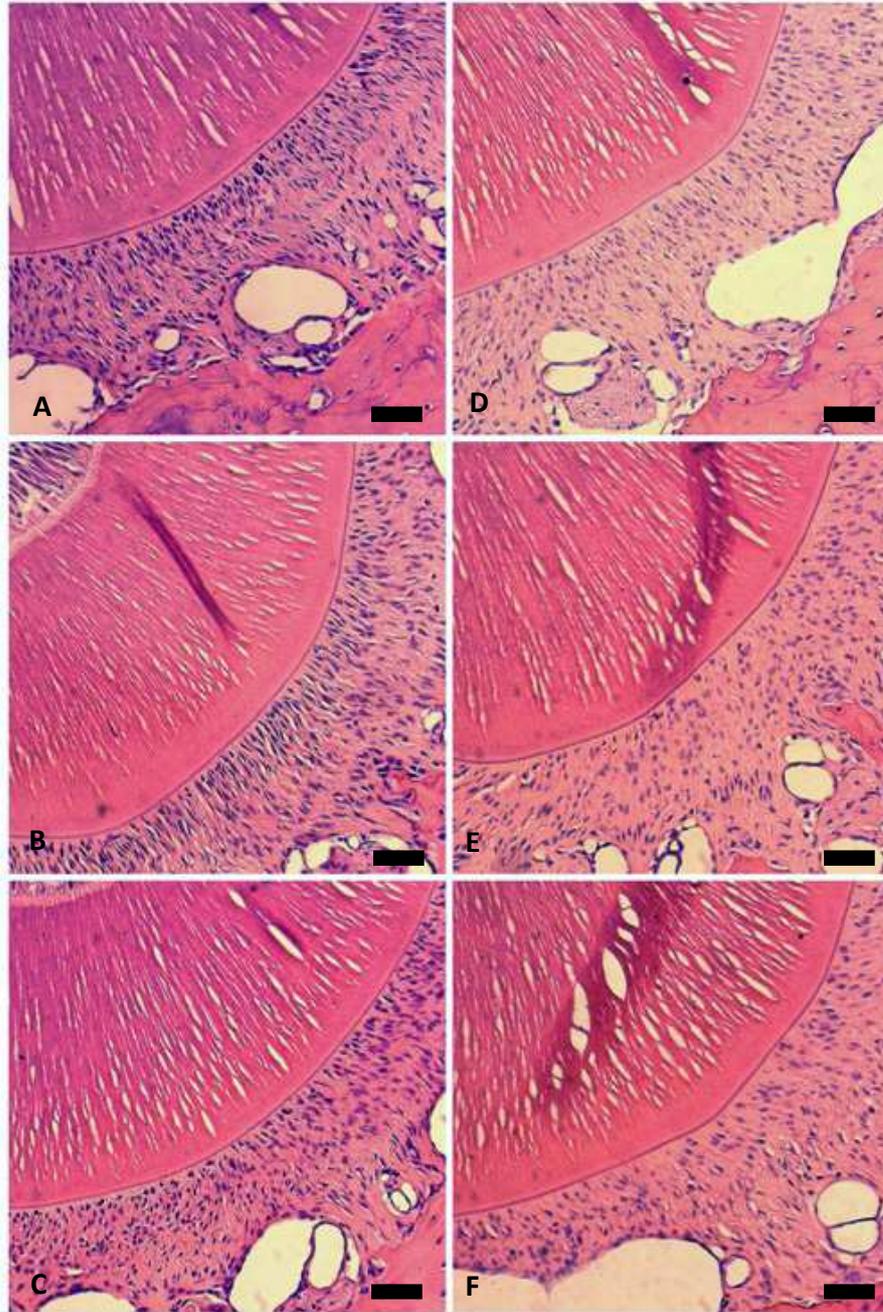


Fig. 10 – Cortes transversais da mandíbula do rato corados com HE e em aumento de 10x. **A, B e C** Animais do grupo controle. **D, E e F** Animais do grupo irradiado.

5.1. Teste de força (Medição da força de resistência à intrusão)

A tabela 1 e figura 11 evidenciam a média dos valores da força necessária para executar a intrusão do dente incisivo, equivalendo à resistência do ligamento periodontal. Os resultados revelaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($p < 0,001$), evidenciando que uma força maior foi necessária para intrusão dos dentes incisivos do grupo controle, traduzindo em maior resistência do ligamento periodontal desses animais.

Tabela 1 – Média (\pm desvio padrão) da força necessária para a intrusão dos incisivos de cada grupo.

Grupo	Controle	Irrradiado
Resistência(N/s)	6,989 ($\pm 1,066$)	4,675 ($\pm 0,766$)

*foi encontrada diferença estatística entre os grupos.

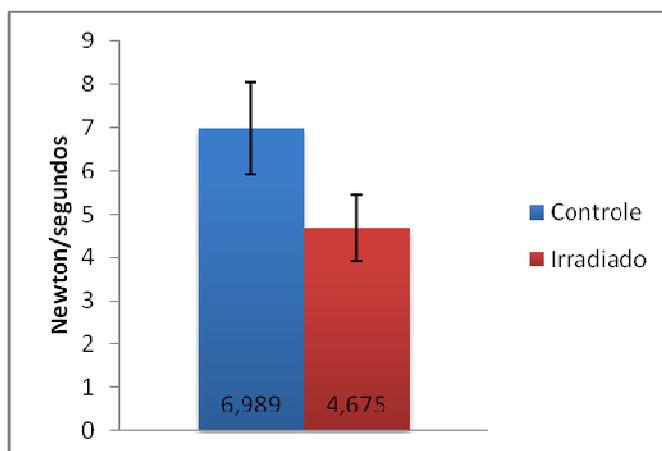


Figura 11 – Gráfico demonstrado as médias (\pm desvio padrão) da força necessária para a intrusão dos incisivos de cada grupo. O teste t de *student* foi utilizado com um $p < 0,001$.

5.2. Análise da organização do colágeno (Microscopia de polarização)

A tabela 2 e figura 12 ilustram a média dos valores de retardo ótico de cada grupo com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$). Observou-se que a média do grupo controle foi maior que a do grupo irradiado, ou seja, as fibras colágenas do primeiro se mostraram mais organizadas.

Tabela 2 – Média (\pm desvio padrão) dos valores de retardo ótico do colágeno de cada grupo.

Grupo	Controle	Irradiado
Polarização (nm)	14,310 ($\pm 1,322$)	9,491 ($\pm 0,506$)

*foi encontrada diferença estatística entre os grupos.

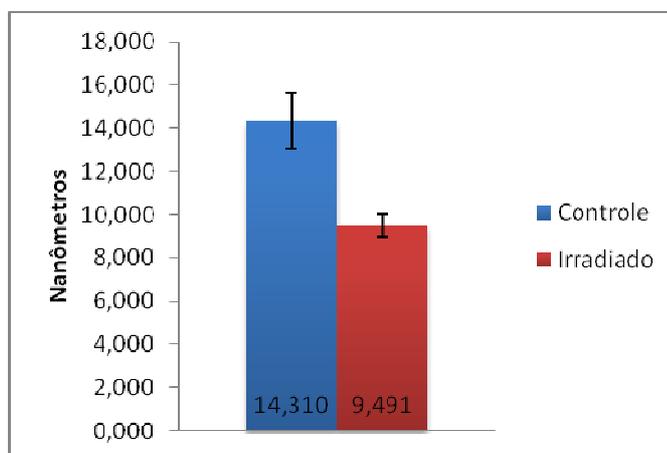


Figura 12 – Gráfico demonstrado as médias (\pm desvio padrão) dos valores de retardo ótico do ligamento periodontal dos incisivos de cada grupo. O teste t de *student* foi utilizado com um $p < 0,001$.

Através dos coeficientes de correlação de Pearson uma forte correlação foi encontrada entre os resultados dos testes (resistência/polarização) em cada grupo (controle/irradiado) testado ($R = 0,683$; $p < 0,001$).

6. Discussão

No presente estudo os animais do grupo irradiado foram submetidos à radioterapia sob a dose de 15 Gy, administrada em um único momento. Nos dias subsequentes pôde-se perceber que os ratos tiveram um decréscimo no peso. Skougaard & Carsten (1978) relatam que os animais irradiados no seu estudo perderam peso nos primeiros dias após a intervenção e só voltaram a recuperar 14 dias após. Araújo (2010) também constatou a perda de peso nos animais que receberam 15 Gy em dose única. Medak (1987) ao avaliar as alterações nos tecidos bucais de macacos irradiados, percebeu a ocorrência de eritemas na mucosa oral e a diminuição do volume de alimento diário consumido pelos animais, com conseqüente perda de peso.

Em nosso estudo, observou-se a ocorrência de alopecia na região do pescoço de todos os animais irradiados bem como hiperemia na mucosa oral. Alguns estudos também citam a ocorrência de alopecia e queimadura como efeitos adversos da irradiação de cabeça e pescoço e ressaltam a característica dose dependente do aparecimento dessas lesões (Ubios *et al.*, 1992; Kaste *et al.*, 2009). Medak (1978) também relata alterações na pele dos macacos irradiados.

A irradiação de 15 Gy em dose única é considerada relativamente alta. Porém é compatível com os tratamentos antineoplásicos de cabeça e pescoço que usam uma dose fracionada de 54 Gy (27 sessões com 2 Gy cada uma) (Niehoof *et al.*, 2008). Em humanos a dose é fracionada para que o organismo tenha tempo para se recuperar, mesmo que parcialmente, dos efeitos adversos da radioterapia, tendo em vista que além de ter o objetivo curativo ou remissivo da doença, a qualidade de vida do paciente também é determinante na escolha da intensidade e duração do tratamento.

A dose foi escolhida por existirem trabalhos que defendem que esta seja uma dose suficiente para causar as alterações estudadas em diferentes tipos de

tecidos e que não causa a morte do animal (Coppes *et al.*, 2001; Boraks *et al.*, 2008). Com doses mais altas de radiação os efeitos adversos e consequentemente as alterações histológicas ficam mais perceptíveis (Sweeney *et al.*, 1977; Lee *et al.*, 1989).

Entretanto, existem estudos nos quais os pesquisadores submeteram os animais a uma dose maior de radiação e tiveram sucesso em suas análises, bem como Niehoff *et al.* (2008) que avaliaram a ação da dose única de 20Gy por braquiterapia em ossos e dentes de ratos. Os animais foram sacrificados 100 dias após a radiação e observou-se que a dose foi bem tolerada e que duas semanas após a radioterapia foi notada alopecia no lado direito e redução do incisivo inferior direito.

Dentre as fases de desenvolvimento do ligamento periodontal, está a fase de organização das fibras, esta, só acontece completamente quando o dente oclui com o seu antagonista. No incisivo do rato, o ligamento periodontal com as fibras efetivamente organizadas está situado na região adjacente à crista alveolar, tendo início na altura da face mesial do primeiro molar (Sloan, 1981; Silva & Merzel, 2004). Essa porção do tecido foi escolhida para análise neste trabalho por conter as características maduras da estrutura.

Foi encontrada uma forte correlação entre os resultados dos testes (resistência/polarização) em cada grupo (controle/irradiado) testado. Os animais do grupo controle mostraram ter o ligamento periodontal mais resistente, com uma satisfatória organização de colágeno. Em contrapartida, os animais irradiados tiveram um decréscimo na força do ligamento periodontal e na organização das fibras colágenas, ou seja, a radiação interferiu na formação e disposição dessas fibras, que por consequência tiveram a sua função de ancoragem enfraquecida.

O periodonto é sensível aos efeitos da radiação em altas doses (Wright, 1987; Marx & Johnson, 1987; Arcuri & Schneider, 1992). Autores que relacionaram a função à força do ligamento periodontal sugerem que a rápida remodelação que ocorre nas fibras pode estar diretamente ligada à diminuição da força de ancoragem do tecido (Kanoza *et al.*, 1980) bem como a desorganização das fibras

colágenas pode estar associada à essa perda de força (Tsuruta *et al.*, 1982). Em concordância, Epstein & Stevenson-Moore (2001) afirmam que a radiação afeta a capacidade de remodelação, tanto dos tecidos ósseos como dos tecidos moles, alterando também os padrões de celularidade e vascularização. Epstein *et al.* (1998) documentaram a perda de suporte periodontal e consequente perda dentária de pacientes submetidos a doses elevadas de radiação.

Omar (2011) ao avaliar os efeitos no ligamento periodontal provocados pela alteração funcional e a contenção dos dentes incisivos de ratos *albinus wistar* também encontrou uma relação direta entre a organização do colágeno e a resistência do ligamento periodontal, ou seja, quanto mais desorganizado o colágeno, menor a resistência ao movimento eruptivo o que consequentemente acelera a taxa de erupção. O mesmo detectou a presença aumentada MMP-2 (matrix metalloproteinase-2), que é uma enzima responsável pela quebra da matriz extracelular, no grupo que apresentava o ligamento periodontal com resistência e organização diminuídas. Portanto, afirma que existe uma íntima relação entre o aumento da atividade de MMP-2 e a desorganização do colágeno com consequente decréscimo da resistência.

Além da alteração da atividade das metaloproteinases no metabolismo do ligamento periodontal, outra vertente interligada e que deve ser ressaltada na busca de explicação para tais mudanças na resistência e organização das fibras colágenas é a vertente inflamatória. A MMP-9 (matrix metalloproteinase-9) é mais frequentemente encontrada em periodontos inflamados (Lorencine *et al.*, 2009). Omar (2011) detectou a presença dessa enzima apenas no grupo em que os dentes estavam contidos, supostamente por uma inflamação devido ao trauma provocado no momento de instalação da contenção. Ou seja, a inflamação mostrou ser um dos fatores que possivelmente influenciaram na debilitação do ligamento periodontal.

Sabe-se que a radiação provoca comprovadamente a inflamação de outros tecidos orais, bem como nos casos de mucosite, em que a mucosa oral encontra-se inflamada. Tendo em vista que a mucosa oral é um tecido com alta taxa

metabólica, o que a torna altamente susceptível aos efeitos adversos da radioterapia, e que o tecido periodontal do incisivo de rato também apresenta essa característica, torna-se possível que a presença de inflamação radioinduzida tenha contribuído com a diminuição da resistência e desorganização das fibras colágenas do tecido.

A radioterapia de cabeça e pescoço parece produzir alterações morfológicas e histológicas no periodonto. Estas alterações podem incluir a redução da atividade osteoblástica, osteoclástica e osteócita (decréscimo da capacidade de remodelação), bem como a diminuição da vascularização e da resposta inflamatória do tecido (Vissink *et al.*, 2003; Meraw & Reeve, 1998) O aumento da perda de inserção periodontal que ocorre com o tempo, em pacientes tratados com radioterapia da região, é um achado comum dentre os estudos publicados, porém este é considerado uma consequência da associação da radioterapia a outros fatores, tais quais: o acúmulo de biofilme e alterações sistêmicas na resposta inflamatória do hospedeiro (Markitiziu *et al.*, 1992; Marques *et al.*, 2004).

Tendo em vista que o ligamento periodontal é formado continuamente nos roedores, a condição de debilidade do tecido pode ser reversível, quando novas células (formadas após o momento da irradiação) compuserem esse novo ligamento periodontal as características de normalidade podem ser resgatadas. É o que pressupõe o autor Sodek (1976) ao afirmar que existe uma rápida mudança do colágeno no ligamento periodontal. Skougaard & Carsten (1978) salientam a considerável importância do metabolismo do colágeno na fisiologia do periodonto e afirma que o equilíbrio entre a destruição e neoformação de colágeno é o que mantém a efetividade das funções do tecido.

Os efeitos colaterais da radioterapia de cabeça e pescoço interferem significativamente na qualidade de vida dos pacientes (Lazarus, 2006). Cada vez mais a preservação do bem estar do paciente está sendo levada em consideração na escolha dos tratamentos frente às neoplasias malignas. Os efeitos da radioterapia são conhecidos e necessita-se de estudos experimentais que se

proponham a estudar uma forma eficaz de amenizá-los. Quanto às condições bucais, existem medidas preventivas que podem e devem ser realizadas antes do início do tratamento. Segundo Silverman (1999), o periodonto pode ser mantido em ótimas condições através de procedimentos periodontais de rotina, sendo necessário ter uma atenção especial com os procedimentos prévios à irradiação, especialmente com estado dentário geral, técnicas de higiene oral, motivação e capacidade de cooperação por parte do paciente. Epstein & Stevenson-Moore (2001) ressaltam que durante a terapia antineoplásica, a pré-existência da doença periodontal pode exacerbar as complicações locais e sistêmicas do paciente. Magalhães *et al.* (2002) concordam que um protocolo de prevenção deve ser instituído antes da radioterapia.

Tendo em vista que alterações significativas na resistência e organização do colágeno foram encontradas na região analisada do incisivo de ratos *albinus wistar*, alterações essas provocadas pela radioterapia com dose de 15 Gy, este estudo pode servir de modelo para futuras pesquisas que visem analisar a eficácia de substâncias radioprotetoras que minimizem ou mesmo barrem os efeitos adversos da radiação ionizante sobre o ligamento periodontal.

Novos estudos também devem ser realizados com o intuito de analisar, mais especificamente como a radiação alterou a organização do ligamento periodontal, pela medição da quantidade ou atividade das metaloproteinases, bem como pela análise das alterações estruturais nos fibroblastos ou mesmo a redução do número destes, dentre outros testes disponíveis.

7. Conclusão

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- 1) A radiação ionizante diminuiu a resistência do ligamento periodontal dos dentes incisivos dos ratos à força de intrusão aplicada;
- 2) A radiação ionizante provocou a desorganização das fibras colágenas do ligamento periodontal dos dentes incisivos dos ratos.

Referências

Almeida FCS, Vaccarezza GF, Cazal C, Benedethe APF, Pinto JR DS, Tavares MR, *et al.* Avaliação odontológica em pacientes com câncer de boca pré e pós tratamento oncológico – Uma proposta de protocolo. *Pesq Bras Odontopediatria Clín Integr.* 2004; 4: 25-31.

Araújo AMM. Efeito da radioterapia na taxa de erupção e na morfologia da região odontogênica dos incisivos de rato [tese]. Piracicaba: FOP/UNICAMP; 2010.

Arcuri MR, Schneider RL. The physiological effects of radiotherapy on oral tissue. *J Prosthodont.* 1992; 1: 37-41.

Bersten W, Everts V. The site of remodeling collagen in the periodontal ligament of the mouse incisor. *Anat Rec.* 1977; 189: 479-498.

Bragante KC, Nascimento DM, Motta NW. Avaliação dos efeitos agudos da radioterapia sobre os movimentos mandibulares de pacientes com câncer de cabeça e pescoço. *Rev. bras. fisioter.* 2012; 16(2).

Boraks G, Tampelini FS, Pereira KF, Chopard RP. Effect of ionizing radiation on rat parotid gland. *Braz Dent J.* 2008; 19(1):73-6.

Caielli C, Martha PM. Sequelas orais da radioterapia: atuação da odontologia na prevenção e tratamento. *Rev Bras Cancerologia.* 1995; 41(4): 231-41.

Cardoso MFA, Novikoff F, Tresso A, Segreto RA, Cervantes O. Prevenção e controle das seqüelas bucais em pacientes irradiados por tumores de cabeça e pescoço. *Radiol. Bras.* 2005; 28(2): 1-25.

Chiba M, Yamane A, Ohshima S, Komatsu K. In vitro measurement of regional differences in the mechanical properties of the periodontal ligament in the rat mandibular incisor. *Arch Oral Biol.* 1990; 35:153–161.

Coppes RP, Zeilstra LJW, Kampinga HH, Konings AWT. Early to late sparing of radiation damage to the parotid gland by adrenergic and muscarinic receptor agonists. 2001; 85 (7): 1055-63.

do Espírito Santo AR, Novaes PD, Line SR. Anisotropic properties of the enamel organic extracellular matrix. *Eur J Oral Sci.* 2006; 114(1): 333-7.

Ellinger F. Effects of ionizing radiation on the oral cavity. In: Thomas CC. *Medical Radiation Biology*. Springfield: Ellinger (Ed); 1957. chapter 18.

Escoda-Francolí J, Albiol JG, Pérez-García S, Rodríguez-Rodríguez A, Gay-Escoda C. Dental implications in oral cancer patients. *Med oral patol oral cir bucal.* 2011; 16(4): 508-13.

Epstein JB. Doença e manipulação periodontal em pacientes com câncer. In: Mealey BL, Rose LE, Cohen DW, Genco RJ. *Medicina Periodontal*. Rio de Janeiro:Santos; 2002. p.296.

Epstein JB, Lunn R, Le N, Steveson-Moore P. Periodontal attachment loss in patients following head and neck radiation therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Endod.* 1998; 86(6): 673-7.

Epstein JB, Stevenson-Moore P. Periodontal disease and periodontal management in patients with cancer. *Oral Oncology.* 2001; 37: 613-19.

Estimativas 2010: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, Instituto Nacional de Câncer (INCA), 2010.

Faloni APS, Lorenzon AP, Margonar R, Fernandes JMA, Sampaio JEC. Importância dos procedimentos periodontais prévios à radioterapia em região de cabeça e pescoço. *Ver Int Periodontia Clin.* 2005; 2(6/7): 93-9.

Frandsen AM. Periodontal tissue changes induced in young rats by Roentgen irradiation on the molar region or the head. *Acta Odontol Scand.* 1962; 20: 393-410.

Gonçalves RCC. Estudo de fatores de risco, prevenção e controle da mucosite oral radioinduzida [tese]. Fundação Antônio Prudente; 2001.

Hong CHL, Napeñas JJ, Hodgson BD, Stokman MA, Mathers-Stauffer F, Elting LS *et al.* A systematic review of dental disease in patients undergoing cancer therapy. *Support Care Cancer.* 2010; 18(8): 1007-21.

Jham BC, Freire ARS. Complicações bucais da radioterapia em cabeça e pescoço. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2006; 72(5): 704-8.

Jisander S, Grenthe B, Alberius P. Dental implant survival in the irradiated jaw: a preliminary report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997; 12: 643-8.

Kanoza RJJ, Kelleher L, Sodek J, Melcher AH. A biochemical analysis of the effect of hypofunction on collagen metabolism in the rat molar periodontal ligament. *Archs Oral Biol*. 1980; 25: 663-668.

Kaste SC, Goodman P, Leisenring W, Stovall M, Hayashi R, Yeazel M, *et al*. Impact of radiation and chemotherapy on risk of dental abnormalities. *Cancer*. 2009; 58: 17-27.

Kent LM, Brennan MT, Noll JL, Fox PC, Burri SH, Hunter JC *et al*. Radiation-induced trismus in head and neck cancer patients. *Support Care Cancer*. 2008; 16(3): 305-9.

Komatsu K. In vitro mechanics of the periodontal ligament in impeded an unimpeded rat mandibular incisor. *Archs Oral Biol*. 1998; 33(11): 783-791.

Komatsu K, Mosekilde L, Viidik A, Chiba M. Polarized light microscopic analyses of collagen fibers in the rat incisor periodontal ligament in relation to areas, regions, and ages. *Anat Rec*. 2002; 268: 381–387.

Lazarus C. Tongue strength and exercise in healthy individuals and in head and neck cancer patients. *Semin Speech Lang*. 2006; 27(4): 260-7.

Lee AC, Angleton GM, Benjamin SA. Hypodontia in the Beagle after perinatal whole-body ^{60}Co γ irradiation. *Radiat Res.* 1989; 118: 467-75.

Lima AA, Figueiredo MAZ, Loureiro MS, Duarte R. Radioterapia de neoplasias malignas em região de cabeça e pescoço – o que o cirurgião-dentista precisa saber. *Rev Odont Ciênc.* 2001; 16(33): 156-63.

Lorencine M, Silva JA, De la Hoz CL, Carvalho HF, Stach-Machado DR. Changes in MMPs and inflammatory cells in experimental gingivitis. *Histol Histopathol.* 2009; 24(2):157-166.

Lopes NNF, Petrilli AS, Caran EMM, França CM, Chilvarquer I, Lederman H. Dental abnormalities in children submitted to antineoplastic therapy. *J Dent Child.* 2006; 73(3): 140-145.

Magalhães MHCG, Candido AP, Araújo NS. Sequelas bucais do tratamento radioterápico em cabeça e pescoço – protocolo de prevenção e tratamento. *RPG Ver Pós Grad.* 2002; 9(1): 7-11.

Markitziou A, Zafiroopoulos G, Tsalikis L, Cohen L. Gingival health and salivary function in head and neck irradiated patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1992; 73(4): 427-33.

Marques MAC, Dib LL. Periodontal changes in patients undergoing radiotherapy. *J Periodontol.* 2004; 75(9):1178-87.

Marx RE, Johnson RP. Studies on the radiobiology of osteoradionecrosis and their clinical significance. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1987; 64: 379-90.

Medak RE. Pediodotium destruction with oncology therapy. Five cases reports. *J Periodontol.* 1987; 58: 559-63.

Meraw SJ, Reeve CM. Dental considerations and treatment of the oncology patient receiving radiation therapy. *JADA.* 1998; 129: 201-205.

Microscopia de polarização. [acesso em maio de 2012]. Disponível em: http://www.nikoninstruments.com/pr_BR/Information-Center/Polarizing

Ministério da Saúde. O que é o câncer, 2003. Disponível na Internet. [http://www.inca.gov.br/cancer/o que é.](http://www.inca.gov.br/cancer/o_que_e)

Neville BW. Injúrias físicas e químicas. In: *Patologia Oral e Maxilofacial.* Guanabara Koogan. 1 ed. Rio de Janeiro; 2004.

Niehoff P, Springer IN, Açil Y, Lange A, Marget M, Roldán JC, *et al.* HDR brachytherapy irradiation of the jaw as a new experimental model of radiogenic bone damage. *J Craniofac Surg.* 2008; 36(4): 203-209.

Omar NF. Relação das MMPs, TIMP-2 e organização do colágeno com a força de resistência do ligamento periodontal ao movimento eruptivo em incisivos de rato [tese]. Piracicaba: FOP/UNICAMP; 2011.

Otmani N. Oral and maxillofacial side effects of radiation therapy on children. *JCDA.* 2007; 73(3): 257-261.

Pinto ACLC, Leite MTT. História da radioterapia. In: Salvajoli JV, Souhami L, Faria SL. Radioterapia em oncologia. Rio de Janeiro: MEDSI; 1999. cap. 2. p. 7-18.

Rothwell BR, Specktor WS. Palliation of radiation-related mucositis. Spec Care Dent. 1990; 10: 21-5.

Rubira CMF, Devides NJ, Úbeda LT, Bortolucci Jr AG, Lauris JR, Rubira-bullen IRF, Damante JH. Evaluation of some oral postradiotherapy sequelae in patients treated for head and neck tumors. Braz Oral Res. 2007; 21(3):272-7.

Salazar M, Victorino FR, Paranhos LR, Ricci ID, Gaeti WP, Caçador NP. Efeitos e tratamento da radioterapia de cabeça e pescoço de interesse ao cirurgião dentista: revisão da literatura. Rev Odonto (São Bernardo do Campo). 2008; 16(31): 62-8.

Salvajoli JV, Maia MAC, Novaes PERS. Tumores de cabeça e pescoço. In: Salvajoli JV, Souhami L, Faria SL. Radioterapia em oncologia. Rio de Janeiro: MEDSI; 1999. cap. 17. p. 335-68.

Silva MAJ, Merzel J. Alveolar bone Sharpey fibers of the rat incisor in normal and altered functional conditions examined by scanning electron microscopy. Anat Rec. 2004; 279: 792-797.

Silverman S. Oral cancer: complications of therapy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1999 ;88(2): 122-6.

Simon Z, Tar I, Gáll K, Ivancsó B, Szabó J, Illés A. Late effect of the cervical irradiation on periodontal status and cariogen flora in hodgkin lymphoma patients. ISRN Hematol. 2011. doi: 10.5402/2011/823926.

Skougaard MR, Carsten AL. Collagen metabolism in skin and periodontal ligament of rats: effect of aging and irradiation. J Dent Res. 1978; 57(2): 334-39.

Sloan P. Some comparative observations on the distributions and form of alveolar sharpey fibers in rat, rabbit, macaque and man. J Dent Res. 1981; 60: 213.

Sodek J. A new approach to assessing collagen turnover by using a Micro-Assay. Biochem. 1976; J160: 243-46.

Sodek J, Ferrier JM. Collagen remodelling in rat periodontal tissues: compensation for precursor reutilization confirms rapid turnover of collagen. Coll Relat Res. 1988; Jan;8(1):11-21.

Sonis ST, Fazio RC, Fang L. Princípios e prática de medicina oral. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2 ed.; 1996.

Stafne EC, Bowing HH. The teeth and their supporting structures in patients treated by irradiation. Amer J Orthodont. 1947; 33: 581-67.

Sweeney WT, Elzay RP, Levitt SH. Histologic effect of fractionated doses of selectively applied ⁶⁰Co irradiation on the teeth of albino rats. J Dent Res. 1977; 56(11): 1403-7.

Tsuruta M, Ohkawa S, Nkatani Y, Kuwahara Y, Chiba M. Effect of experimental tooth movement on the mechanical strength of the periodontium in the rat mandibular first molar. *Archs Oral Biol.* 1982; 27: 875-879.

Ubios AM, Piloni MJ, Cabrini RL. Mandibular growth and tooth eruption after localized x-radiation. *J Oral Maxillofac Surg.* 1992; 50(2): 153-56.

Vieira ACF, Lopes FF. Mucosite oral: efeito adverso da terapia antineoplásica. *Rev Ciênc Med Biol.* 2006; 5: 268-74.

Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FK, Jansma J, Coppes RP. Prevention and treatment of the consequences of head and neck Radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003; 14(3): 213-15.

Wright WE. Periodontium destruction with oncology therapy: five case reports. *J Periodontol.* 1987; 58: 559-63.

Anexo



UNICAMP



CEUA/Unicamp

Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/Unicamp

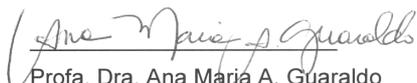
CERTIFICADO,

Certificamos que o projeto "Estudo da organização do colágeno e resistência do ligamento periodontal em incisivos de ratos irradiados" (protocolo nº 2531-1), sob a responsabilidade de Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes / Karla Rovaris da Silva, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e com a legislação vigente, LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, e o DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP - em 19 de outubro de 2011.

Campinas, 31 de outubro de 2012.

2ª. VIA


Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente


Fátima Alonso
Secretária Executiva