

Alan Roger dos Santos Silva

“ANÁLISE MORFOLÓGICA E CONTEÚDO MINERAL DA CÁRIE DE
RADIÇÃO. ESTUDO POR MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA E
MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.”

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do Título de Mestre em
Estomatopatologia, Área de
concentração em Estomatologia.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Ajudarte Lopes

Piracicaba

2008

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**
Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

Si38a	<p>Silva, Alan Roger dos Santos. Análise morfológica e conteúdo mineral da cárie de radiação. Estudo por microscopia de luz polarizada e microscopia eletrônica de varredura. / Alan Roger dos Santos Silva. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2008.</p> <p style="text-align: center;">Orientador: Márcio Ajudarte Lopes. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p style="text-align: center;">1. Boca – Câncer. 2. Radioterapia. 3. Espectroscopia. I. Lopes, Márcio Ajudarte. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">(mg/fop)</p>
-------	---

Título em Inglês: Morphological analysis and chemical content of radiation caries. A polarized light microscopy and scanning electron microscopy study

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Mouth cancer. 2. Radiotherapy. 3. Spectroscopy

Área de Concentração: Estomatologia

Titulação: Mestre em Estomatopatologia

Banca Examinadora: Marcio Ajudarte Lopes, Mario Fernando de Goes, Ana Maria Pires Soubhia

Data da Defesa: 29-02-2008

Programa de Pós-Graduação em Estomatopatologia



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



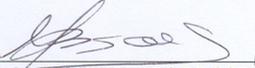
A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 29 de Fevereiro de 2008, considerou o candidato ALAN ROGER DOS SANTOS SILVA aprovado.



PROF. DR. MARCIO AJUDARTE LOPES



PROFa. DRa. ANA MARIA PIRES SOUBHIA



PROF. DR. MARIO FERNANDO DE GOES

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, professores Eurípides Alves da Silva e Maria Batista dos Santos Silva, por me terem feito compreender, com naturalidade, o valor da educação, além de me terem ensinado, por meio do exemplo, o magistério como atitude de amor. Foram necessários estes nove anos, fisicamente longe de casa, para percebê-los diária e vivamente materializados em minha própria personalidade, prova de meu amor e da eterna gratidão que tenho por eles.

Às minhas queridas irmãs, Vivian Lara dos Santos Silva e Michelle dos Santos Silva, que desde cedo compartilham intensamente comigo todas as dificuldades e conquistas do processo de amadurecimento, sempre me apoiando com dedicação e com carinho incondicionais.

À minha querida Ana Carolina Prado Ribeiro, há mais de seis anos me acompanhando com amor, paciência e renúncia, sempre me estimulando sem perder o interesse pelo seu próprio crescimento profissional e intelectual.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus avós Oswaldo Alves da Silva (*in memorian*), Irene Ferreira da Silva, Antônio Alves dos Santos (*in memorian*) e Adelina Batista dos Santos (*in memorian*) pelo exemplo de integridade, dedicação à família e amor ao trabalho. Agradeço, ainda, aos meus tios e primos que, de perto, me acompanham e apoiam.

À Catarina Silva Rossignolo, minha primeira sobrinha, que veio revigorar as energias de nossa família, nos enchendo de ternura. Aos meus cunhados João Adriano Rossignolo e Cícero Reis Silva, pelo exemplo, tranquilidade e segurança que me oferecem estando ao lado de minhas irmãs.

A Antônio José Ribeiro, Renata Prado Ribeiro, Alice Silva, Juliana Ribeiro e Marcelo Ribeiro que, com carinhosa abnegação, souberam me acolher durante os últimos seis anos.

Aos membros da estimada família Pires Soubhia, pelo desprendimento e carinho que sempre me dispensaram, como se dela fizesse parte.

Ao doutorando Luiz Alcino Monteiro Gueiros, diligente amigo que, ao lado da figura ímpar e especial de Mario José Romãach, ambos companheiros de república, contribuiu de forma decisiva para o meu aprendizado ao longo destes dois anos.

Aos inesquecíveis amigos, de fraterna lembrança, dos saudosos anos que vivi em Araçatuba: Angelo Puerro, Arthur Falleiros, Renato Ferraço, Giuliano Rosa, Daniel Bernabé, Melaine Lawal, Carla de Sá, Luciana Simonato, Rodrigo Borges, Valéria Durão e Tiago Frameschi.

Aos amigos e colegas com quem pude privar meus bons tempos de infância, na Rua Argentina, em S. J. do Rio Preto-SP, e, igualmente, aos amigos e familiares pelos felizes momentos na cidade de Nhandeara-SP.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Márcio Ajudarte Lopes, pela valiosa orientação bem como pelo estímulo e pelos oportunos ensinamentos pessoais e profissionais, assimilados em momentos de rica descontração. Exemplo de competência, seriedade, honradez e dedicação, o que lhe confere o dom de conquistar o respeito e a admiração de quantos dele se acercam.

A todos os profissionais da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, tomando a liberdade de fazê-lo por meio de seu Diretor, Professor Doutor Francisco Haiter Neto.

Ao Coordenador dos cursos de pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Professor Doutor Mário Alexandre Coelho Sinhoreti, e ao coordenador do Programa de pós-graduação em Estomatopatologia, Professor Doutor Jacks Jorge Júnior.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelos imprescindíveis auxílios concedidos na forma de bolsa de iniciação científica (Processo 107951/2004-5) e bolsa de mestrado (Processo: 131654/2006-3).

Aos membros das áreas de Semiologia e Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, onde tenho o privilégio de desfrutar de intenso ambiente acadêmico e científico, rico do ponto de vista pessoal e base muito sólida para o meu desenvolvimento e treinamento profissional.

À Professora Doutora Ana Maria Pires Soubhia, do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, que me despertou para o universo da iniciação científica e, generosamente, estendeu a orientação de doze meses de trabalho para uma mútua e permanente relação de amizade e respeitosa confiança.

Ao Professor Doutor Glauco Issamu Miyahara, do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, meu mentor na prática da Estomatologia e dedicado amigo, que, ainda hoje, embora a distância, compartilha idéias e me estimula continuamente.

Aos professores da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, onde me foi cultivado o amor à Odontologia e ao Serviço Público e onde me envolvi com a Patologia Bucal e a Estomatologia, especialmente pelos profissionais do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica, pelos quais tenho profunda admiração, respeito e dívida.

Aos professores doutores das Áreas de Patologia e Semiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Edgard Graner, Jacks Jorge Júnior, Márcio Ajudarte Lopes, Oslei Paes de Almeida, Oswaldo Di Hipólito Júnior, Pablo Agustín Vargas e Ricardo Della Coletta, pela maneira competente e cordial com que conduzem nosso grupo de trabalho.

Ao Professor Doutor Fábio de Abreu Alves, chefe do Departamento de Estomatologia da Fundação Antônio Prudente, Hospital do Câncer AC Camargo, São Paulo-SP, por ter cedido, gentilmente, o material biológico que viabilizou a execução desta dissertação e pelo auxílio no desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Ao Professor Doutor Mario Fernando de Góes, da Área de Materiais Dentários, e ao doutorando Alberto Antunes pela inestimável contribuição nesta dissertação, especialmente por ocasião do preparo das amostras, orientação durante os experimentos e pela contribuição com equipamentos.

Ao Professor Doutor Marcelo Giannini, da Área de Dentística, e à doutoranda Sandrine Bittencourt Berger pela orientação durante os experimentos bem como pelo desprendimento e gentileza ao compartilhar o microscópio de luz polarizada, adquirido por meio do auxílio à pesquisa Fapesp (processo 05/60696-2).

Ao biólogo Adriano Luis Martins, da Área de Patologia, pelo treinamento e orientação efetuados com extrema paciência e dedicação junto ao Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Aos pós-graduandos em Estomatopatologia, responsáveis por oportuno e enriquecedor intercâmbio de experiências e aprendizado diário: Ademar Takahama Junior, Adrielle Ferreira Gouvêa, Ana Terezinha Mesquita, Andréia Aparecida da Silva, Carolina Cavalcanti Bitu, Danyel Elias da Cruz Perez, Débora Campanella Bastos, Eduardo Baülm Campagnoli, Fabiana Seguin, Fernanda Viviane Mariano, Guillermo Martínéz Matta, Jorge Esquiche León, Lays Martin Sobral, Lília Alves Rocha, Lívia Maris Paranaíba, Lucielma Salmito Pinto, Kenia Regina Silva, Luiz Alcino Monteiro Gueiros, Marco Antonio Carvalho, Maria Fernanda Setúbal Destro, Mário José Romañach Gonzalez Sobrinho, Michele Gassen Kellermann, Michelle Agostini, Patrícia Gemma Strappa Abrahão, Rebeca de Souza Azevedo e Victor Hugo Toral Rizo.

Aos profissionais do OROCENTRO e do Laboratório de Patologia, em especial aos seus zelosos funcionários, Rogério de Andrade Elias, Aparecida Campion, Débora Gazola, Elen Lopretti, Ana Cristina do Amaral Godoy, João Carlos da Silva Júnior, Valéria Franco e Rosa Maria Scalco.

A todos os demais profissionais e pessoas que, de diversas maneiras e intensidade, contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Naître, mourir, renaître encore
et progresser sans cesse
telle est la loi”*

Allan Kardec

RESUMO

Dentre as seqüelas oriundas da radioterapia para o tratamento do câncer de cabeça e pescoço, a cárie de radiação está entre as mais significativas, podendo gerar destruição dentária generalizada. Considerando os escassos trabalhos que avaliaram a morfologia e a progressão microscópica da cárie de radiação, este estudo teve por objetivo principal analisar a morfologia e o conteúdo mineral da cárie de radiação utilizando trinta e seis dentes extraídos de onze pacientes que receberam radioterapia na região de cabeça e pescoço. As características deste material foram descritas considerando os aspectos macroscópicos, radiográficos, histológicos por meio da microscopia de luz polarizada (MLP) e ultra-estruturais por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV). De modo complementar, o conteúdo mineral destes dentes foi quantificado com auxílio da microanálise, baseada na espectroscopia de dispersão de energia (EDS). A cárie de radiação desta amostra apresentou o mesmo perfil histológico, ultra-estrutural e o mesmo padrão de desmineralização que os descritos na literatura para cáries convencionais, com presença de dentina desmineralizada, esclerose dentinária, zona translúcida, tratos mortos dentinários, dentina reacional e deposição de dentina intra-tubular. Diminuição do conteúdo de Cálcio (Ca) e Fósforo (P) na dentina desmineralizada e razão Ca/P semelhante aos valores esperados para dentina desmineralizada convencional, dentina e esmalte sadios não irradiados também foram encontrados. Por fim, constatamos que a cárie de radiação se desenvolve seguindo os mesmos padrões morfológicos e de desmineralização das cáries convencionais e que a dentina dos dentes irradiados preserva a habilidade reparadora em resposta à progressão da cárie.

Palavras-chave: câncer bucal, radioterapia, cárie de radiação, microscopia de luz polarizada, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de dispersão de energia.

ABSTRACT

Among sequelae of radiation therapy for the treatment of the head and neck cancer, radiation caries is the one of the most significant, being able to cause generalized dental destruction. Considering the lack of works that had evaluated the morphology and the microscopical progression of the radiation caries, the main objective of this study was to analyze the morphology and the mineral content of the radiation caries using thirty and six extracted teeth of eleven patients who had undergone radiation in the head and neck region. The characteristics of this material were described considering the macroscopic, radiographic, histologic by polarized light microscopy (PLM) and ultrastructural by scanning electron microscopy (SEM). In complementary way, the mineral content of these teeth was quantified with aid of the microanalysis based on the energy dispersive x-ray (EDS). The radiation caries of this sample presented the same histological and ultrastructural profile and the same demineralization standard that the ones described in literature for conventional caries, with presence of demineralized dentin, sclerotic dentins, translucent zone, dentin dead tracts, reactional dentin and intratubular dentin deposition. Reduction of the content of Calcium (Ca) and Phosphor (P) in the demineralized dentin of radiation caries and Ca/P reason similar to the expected values for non-irradiated demineralized dentin, dentine and enamel was also found. Finally, it was also observed evidence that the radiation caries develops following the same morphological and demineralization standard of the conventional caries and that the dentin of irradiated teeth preserves the ability of repairman in reply to the progression of the caries.

Key Words: oral cancer, radiotherapy, radiation caries, polarized light microscopy, scanning electron microscopy, energy dispersive x-ray analysis.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
	2.1. Considerações gerais	3
	2.2. Radioterapia	4
	2.3. Efeitos secundários da radioterapia	5
	2.4. Alterações dentais associadas à radioterapia	6
	2.5. Extrações dentárias em pacientes irradiados	9
	2.6. Estudos <i>in vitro</i> em dentes irradiados	10
	2.7. Atualidades do tratamento do câncer de cabeça e pescoço	11
	2.8. Tratamento da cárie de radiação	12
	2.9. Uso de microscopia de luz polarizada, microscopia eletrônica de varredura (elétrons retro-espalhados) e microanálise (espectroscopia de dispersão de energia) no estudo da cárie	14
3	PROPOSIÇÃO	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
	4.1. Caracterização do material e coleta de dados dos pacientes	21
	4.2. Análise macroscópica e radiográfica do material	22
	4.3. Preparo das amostras	22
	4.4. Análise das regiões ou zonas da cárie de dentina, padrão de desmineralização da cárie de dentina, presença de dentina reacional e identificação de desmineralizações em esmalte por meio da microscopia de luz polarizada (MLP)	23
	4.5. Análise das regiões ou zonas da cárie de dentina, padrão de desmineralização da cárie de dentina e presença de dentina reacional por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando imagens por elétrons retro-espalhados (ERE)	24

4.6. Análise do Conteúdo mineral do esmalte, dentina sadia e dentina desmineralizada por meio da microanálise baseada na espectroscopia de dispersão de energia(EDS)	24
5 RESULTADOS	27
5.1. Perfil clínico dos pacientes	27
5.2. Análise macroscópica e radiográfica do material	30
5.3. Análise das regiões ou zonas da cárie de dentina, padrão de desmineralização da cárie de dentina, presença de dentina reacional e identificação de desmineralizações em esmalte por meio da microscopia de luz polarizada (MLP)	41
5.4. Análise das regiões ou zonas da cárie de dentina, padrão de desmineralização da cárie de dentina e presença de dentina reacional por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando imagens por elétrons retro-espalhados (ERE)	56
5.5. Análise do Conteúdo mineral do esmalte, dentina sadia e dentina desmineralizada por meio da microanálise baseada na espectroscopia de dispersão de energia(EDS)	74
6 DISCUSSÃO	79
7 CONCLUSÕES	91
8 REFERÊNCIAS	93
9 ANEXOS	101

1. INTRODUÇÃO

O tratamento do câncer de cabeça e pescoço envolve na maioria das vezes radioterapia. No entanto, tão evidente quanto o efeito terapêutico da radiação são as seqüelas bucais, principalmente cárie de radiação, osteorradionecrose, mucosite e hipossalivação. A cárie de radiação, em especial, embora tenha sido descrita inicialmente em 1939, por Del Regato, persiste acometendo pacientes irradiados e representa uma dificuldade clínica adicional para o manejo dos dentes envolvidos. Seu tratamento é complexo e está baseado na experiência clínica de cada profissional, geralmente pouco fundamentada cientificamente em vista da carência de estudos a respeito da etiologia e patogênese desta condição, o que naturalmente tem limitado a qualidade de vida dos pacientes oncológicos (Jansma *et al.*, 1992; Jansma *et al.*, 1993; Vissink *et al.*, 2003a; Vissink *et al.*, 2003b).

Em alguns casos, a dentição destes pacientes pode ser completamente perdida em um pequeno intervalo de tempo. Notavelmente, a rápida progressão das cáries de radiação não está associada a dores intensas e estas lesões de cárie, classicamente, afetam superfícies lisas e cervicais, consideradas altamente resistentes à cárie em pacientes não irradiados. Posteriormente, mudanças na translucidez, coloração (pigmentação preto-acastanhada das faces lisas) e friabilidade aumentada podem gerar fraturas e completa amputação da coroa (Kielbassa *et al.*, 2006).

Nesta dissertação, nos concentraremos na problemática dos danos que a estrutura dental pode sofrer em decorrência da radiação. Para este fim, recorreremos às análises histológicas e ultraestruturais de dentes extraídos de pacientes que passaram por tratamento radioterápico de cabeça e pescoço, buscando uma compreensão mais apurada desta alteração, reconhecidamente complexa e multifatorial, além de novas diretrizes para o futuro desenvolvimento de materiais restauradores específicos para as necessidades de dentes com cárie de radiação.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Considerações gerais

A região de cabeça e pescoço é um freqüente local de ocorrência de neoplasias malignas, que acometem principalmente os lábios, tecidos moles e duros da cavidade bucal, faringe, laringe, glândulas salivares menores e maiores, cavidade nasal e seios paranasais (Huber, Terezhalmay, 2003). Na boca o carcinoma espinocelular (CEC) é a mais comum, representando aproximadamente 90% de todos os casos (Wingo *et al.*, 1995; Scully, Felix, 2006). Anualmente, estima-se que mais de 300.000 novos casos de câncer de boca sejam diagnosticados no mundo, representando aproximadamente 3% de todos os tipos de câncer e o sexto tipo mais comum (Scully, Felix, 2006; Shah, Singh, 2006). O Instituto Nacional de Câncer (INCA) estima que mais de 14.100 novos casos de câncer de boca serão diagnosticados no Brasil, só no ano de 2008 (INCA, 2007).

O estadiamento clínico dos CECs considera o tamanho do tumor primário, tamanho e quantidade dos linfonodos cervicais envolvidos e a presença de metástase à distância como os principais fatores clínicos prognósticos, características que influenciam diretamente na escolha do tipo de abordagem terapêutica (Wittekind *et al.*, 2001). Diversos estudos têm mostrado que a maior parte dos CECs são diagnosticados tardiamente, ou seja, no momento do diagnóstico o paciente apresenta estadiamento clínico avançado, o que costuma levar, por consequência, a um prognóstico ruim (Scully, Felix, 2006; Warnakulasuriya *et al.*, 2007).

O tratamento das neoplasias de cabeça e pescoço depende de um modo geral, do estadiamento clínico do tumor no momento do diagnóstico, da localização do tumor, de sua diferenciação histológica e das condições físicas do paciente. O tratamento é realizado principalmente por meio de cirurgia e radioterapia e em grande parte dos casos as duas modalidades terapêuticas são associadas. A cirurgia reabilitadora também pode ser considerada como parte do

tratamento destes casos. Já a quimioterapia tem indicação reservada para poucos casos de CEC, restringindo-se basicamente àqueles mais avançados e considerados sem condições de serem tratados cirurgicamente (Kowalski *et al.*, 2005; Sciubba, Goldenberg, 2006). Os casos diagnosticados com estadiamento clínico avançado são também tratados por cirurgia radical e complementados por radioterapia (McLeod *et al.*, 2005; Lopes-Jornet, Camacho-Alonso, 2006).

2.2. Radioterapia

Os primeiros equipamentos de radioterapia produziam raios-x de baixa energia (máximo de 100 kilovolts), incapazes de penetrar os tecidos normais. Conseqüentemente, estes equipamentos produziam resultados insatisfatórios para quase todos os tipos de tumores, com exceção dos superficiais. Em 1950, o advento das máquinas de cobalto-60 possibilitou o uso de raios-x com maior nível de energia, aproximadamente 1,2 meV (*million electron volts*), o que resultou em menor dano à pele (radiodermite). Entretanto, seu efeito terapêutico continuou limitado à profundidade de 0,5 cm. A tecnologia atual utiliza aceleradores lineares para níveis de energia próximos de 20 meV. A variação da quantidade de energia a ser usada no tratamento depende da profundidade do tumor e a maioria dos CECs tratados por radioterapia requer aceleradores lineares de 4 a 6 meV (Huber, Terezhalmay, 2003).

O benefício terapêutico da radiação, como se sabe, está relacionado ao seu efeito no DNA das células tumorais. A radiação pode interagir com o DNA da célula diretamente, causando sua fragmentação, principalmente durante a duplicação do DNA no ciclo celular. Ou indiretamente, interagindo com moléculas de água ou oxigênio, resultando na formação de pares de íons e metabólitos reativos de oxigênio como H_2O_2 e radicais hidroxila. De uma forma ou de outra, isto significa que o DNA danificado não consegue ser reparado pelas células malignas, que apresentam defeitos nos mecanismos de controle do ciclo celular,

gerando morte celular e diminuição da atividade maligna do tumor (Huber, Terezhalmay, 2003).

Vale lembrar, finalmente, que a dose de radiação terapêutica é expressa pela quantidade de energia absorvida pelo tecido irradiado, e a unidade que padroniza a dose absorvida pelo tecido é chamada Gray (Gy = 1 J/Kg) (Huber, Terezhalmay, 2003).

2.3. Efeitos secundários da radioterapia

Em adição aos efeitos terapêuticos e anti-neoplásicos, a radiação ionizante causa danos aos tecidos normais localizados no interior ou mesmo nas adjacências do campo irradiado. Sinais e sintomas comuns em pacientes irradiados durante o tratamento do câncer de cabeça e pescoço incluem mucosite, hipossalivação, osteorradionecrose e cárie de radiação entre outros (Springer *et al.*, 2005; Kielbassa *et al.*, 2006; Sciubba, Goldenberg, 2006).

Na maioria das vezes, de acordo com a localização do tumor maligno primário e dos linfonodos metastáticos, glândulas salivares maiores, mucosa bucal, maxila e mandíbula terão que ser incluídos no campo irradiado. Deste modo, os danos aos tecidos saudáveis adjacentes ao campo irradiado se tornam mais evidentes e quase impossíveis de serem evitados. Sobretudo porque na região do pescoço e cabeça estão localizadas diversas estruturas de características biológicas diferentes como pele, mucosa, tecido conjuntivo subcutâneo, glândulas salivares, dentes e osso (Kielbassa *et al.*, 2006; Sciubba, Goldenberg, 2006).

Estes tecidos normalmente mostram diferentes reações à radioterapia, as quais dão origem a efeitos agudos (mucosite, perda da função gustatória e xerostomia) e efeitos crônicos ou tardios (cárie de radiação, trismo e osteorradionecrose) (Kielbassa *et al.*, 2006; Sciubba, Goldenberg, 2006).

Considerando as principais complicações da radioterapia em cabeça e pescoço, o protocolo de tratamento radioterápico costuma ser fracionado em 5 a 7

semanas com doses diárias médias de 2Gy de radiação. As doses são administradas 5 vezes por semana e intercaladas por 2 dias sem radiação (correspondente aos finais de semana) a fim de que os tecidos saudáveis adjacentes ao tumor possam se recuperar (Huber, Terezhalmy, 2003; Vissink *et al.*, 2003b; Kielbassa *et al.*, 2006). Ainda na primeira semana (mediante a administração de doses de aproximadamente 10Gy) os pacientes podem se queixar de alterações na função gustatória. Quase que simultaneamente (10 a 15Gy) podem surgir mucosite e hipossalivação (15-20Gy). A cárie de radiação, como uma manifestação tardia, pode ter início após 50Gy de radiação – por volta da sexta semana de tratamento – e o risco de osteorradionecrose aumenta depois de 60Gy de radiação. Hipossalivação e suscetibilidade aumentada à cárie de radiação e osteorradionecrose costumam não desaparecer mesmo após o final do tratamento radioterápico, às vezes estendendo-se indefinidamente (por toda a vida do paciente) (Huber, Terezhalmy, 2003; Kielbassa *et al.*, 2006).

2.4. Alterações dentais associadas à radioterapia

Evidências científicas sugerem que o risco para o desenvolvimento da cárie de radiação estará presente por toda a vida dos pacientes após a radioterapia (Kielbassa *et al.*, 2006). Recente estudo, feito com pacientes brasileiros acompanhados clinicamente por um período médio de 28,7 meses após o término da radioterapia em cabeça e pescoço mostrou que 11,1% dos pacientes desenvolveram cárie de radiação (Bonan *et al.*, 2006).

A patogênese da cárie de radiação persiste pouco compreendida, embora seja uma lesão de natureza reconhecidamente multifatorial. Dentre os diversos fatores que podem contribuir para o desenvolvimento da cárie de radiação está a rápida diminuição no fluxo salivar, facilmente constatada nos pacientes irradiados, caindo para menos de 10% dos valores normais após 60-70Gy de radiação, dose comum para tratamento de carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço. Como fator de complicação, acrescenta-se que as glândulas salivares maiores

irradiadas passam a apresentar degeneração acinar irreversível, perpetuando a hipossalivação. De modo semelhante, a mucosite, uma das primeiras complicações da radioterapia de cabeça e pescoço, acometendo, aproximadamente 80% dos pacientes irradiados desencadeia dor intensa e sensibilidade aumentada da mucosa bucal, dificultando a deglutição (inclusive a ingestão de líquidos), a fala e por conseqüência a higiene bucal. Ainda por conta da dor decorrente da mucosite e da associação com a perda de paladar, peculiar aos pacientes irradiados, ocorrem modificações na dieta desta população, normalmente com aumento do consumo de alimentos menos fibrosos e mais ricos em carboidratos, tornando-se conseqüentemente mais cariogênicos (Pankhurst *et al.*, 1996; Kielbassa *et al.*, 2006; Sciubba, Goldenberg, 2006).

A radiação resulta, ainda, em mudanças na qualidade e composição salivar, com aumento da viscosidade, diminuição da capacidade tampão, alteração na concentração eletrolítica e grande alteração na população bacteriana comum da saliva humana. Estes fatores fazem crescer o número de microorganismos acidogênicos e cariogênicos (*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* e espécies de *Candida*), reduzindo a capacidade imunológica antibacteriana inerente à saliva. O pH salivar pós-irradiação diminui de 7,0 para 5,0 tornando-se definitivamente cariogênico (Stevenson, Epstein, 1993; Pankhurst *et al.*, 1996; Al-Nawas, Grotz, 2006; Kielbassa *et al.*, 2006). Como agravante da diminuição da quantidade de saliva, do pH salivar e da perda da capacidade tampão salivar, o conteúdo mineral do esmalte e da dentina pode sofrer dissolução facilmente (Shaw *et al.*, 2000; Kielbassa *et al.*, 2006; Sciubba, Goldenberg, 2006).

Em adição aos danos indiretos da radiação aos dentes, principalmente à já bem estabelecida participação das alterações quantitativas e qualitativas da saliva na patogênese da cárie de radiação, alguns autores também consideram os efeitos diretos da radiação sobre o esmalte, dentina e polpa como fatores importantes para a patogênese da cárie de radiação (Grötz *et al.*, 1998; Al-Nawas *et al.*, 2000; Vissink *et al.*, 2003b). Estudos sugerem que alterações degenerativas no tecido pulpar dos dentes irradiados seriam responsáveis pela diminuição das

características de resistência e microdureza da dentina nestes dentes. Sugerem, inclusive, que o colágeno do esmalte e da dentina poderia ser degradado pela ação direta da radiação ionizante, representando efeitos diretos da radiação na estrutura dentária, contribuindo para o desenvolvimento da cárie de radiação (Al-Nawas *et al.*, 2000; Açil *et al.*, 2005; Springer *et al.*, 2005).

Springer *et al.* (2005) comentam que a radiação poderia exercer efeito destrutivo direto nos tecidos dentais mineralizados, em especial na junção amelo-dentinária, embora tenham conseguido demonstrar destruição radiogênica do colágeno apenas em tecido pulpar de dentes humanos. Com isso, os autores defendem a hipótese de que quando os dentes estão localizados no interior do campo irradiado ocorreria uma hipovascularização local, resultando no decréscimo da circulação sanguínea pulpar e no comprometimento do metabolismo dos odontoblastos. Estas alterações nos odontoblastos provocariam enfraquecimento da estrutura dental, contribuindo para o processo multifatorial da cárie de radiação.

A morfologia de lesões de cárie em dentes não irradiados e seu respectivo conteúdo mineral (relação entre a quantidade de Cálcio e Fósforo), assim como o conteúdo mineral do esmalte e da dentina de dentes permanentes não irradiados, foram recentemente descritos pela literatura. Estes dados foram estabelecidos por estudos baseados na microscopia de luz polarizada e no uso de imagens por elétrons retro-espelhados do microscópio eletrônico de varredura, associados à microanálise (Arnold *et al.*, 2001; Arnold *et al.*, 2003; Arnold, Gaengler *et al.*, 2007). Já a morfologia e o conteúdo mineral do esmalte e da dentina em dentes irradiados bem como da cárie de radiação infelizmente não foram ainda descritos e poderiam fornecer elementos importantes para uma discussão mais profunda a respeito da etiologia e patogênese desta condição.

2.5. Extrações dentárias em pacientes irradiados

Durante a avaliação odontológica antes do início da radioterapia, devem ser consideradas algumas informações como o prognóstico do paciente, as condições gerais médicas e de higiene bucal, estado geral dos dentes e a presença ou não do dente e das glândulas salivares maiores no campo irradiado.

Do ponto de vista dentário, a extração em pacientes irradiados deve ser indicada particularmente quando existir evidência de lesão de cárie avançada com viabilidade pulpar questionável, envolvimento pulpar ou invasão de espaço biológico pela cárie, doença periodontal avançada ou sintomática (especialmente com perda óssea avançada), mobilidade com envolvimento de furca, raízes residuais não totalmente cobertas por osso alveolar ou mostrando radioluscência, ou ainda, dentes impactados sintomáticos ou erupcionados parcialmente e não cobertos totalmente por osso alveolar (Lopes *et al.*, 1998; Sulaiman *et al.*, 2003; Koga *et al.*, 2008).

Pelo fato da cárie, por si só, representar um fator de risco para a osteorradionecrose, o tratamento odontológico incluindo extração dos dentes não restauráveis deve ser realizado em um período médio de duas semanas antes do início da radioterapia. Em certas ocasiões, quando os dentes não foram extraídos antes da radioterapia e existe indicação para extração depois da radioterapia, estas devem ser realizadas evitando-se ao máximo manobras traumáticas e zelando-se pela manutenção do contorno do osso alveolar (Wahl, 2006), mesmo sabendo que o risco do desenvolvimento de osteorradionecrose induzida por exodontia é semelhante quando os dentes com indicação são extraídos antes ou depois da radioterapia.

Marx (1983), descreveu a osteorradionecrose como necrose e exposição óssea dos maxilares para o meio bucal que não regride por, pelo menos, 6 meses, associadas a traumas à mucosa bucal, especialmente exodontias pré ou pós-radioterapia (ressalvando-se o fato de que também podem ocorrer espontaneamente), que acometem pacientes após a radioterapia em cabeça e

pescoço. O mesmo autor fundamentou a patogênese desta condição segundo a capacidade da radiação em gerar hipovascularização e hipóxia do tecido ósseo, que ocasionaria hipocelularidade, friabilidade óssea e microfraturas crônicas não reparáveis.

O fenômeno da osteorradionecrose acomete com maior frequência a região posterior de mandíbula, talvez pela menor vascularização e maior compactação óssea desta região anatômica, sendo muito baixa sua incidência pré ou pós-exodontias em maxila e região anterior de mandíbula (Reuther *et al.*, 2003).

Com o objetivo de minimizar o risco de osteorradionecrose induzida por exodontias antes ou depois da radioterapia, a indicação de terapia profilática com auxílio da oxigenação hiperbárica ou antibiótica tem sido amplamente indicada. No entanto, recentes trabalhos clínicos controlados mostram que nenhuma das duas modalidades parece reduzir significativamente o risco de osteorradionecrose (Wahl, 2006).

A principal estratégia preventiva para osteorradionecrose seria a avaliação e o tratamento odontológico prévios à radioterapia, assim como a manutenção da saúde dental durante e após o término da radioterapia, considerada componente importante para o tratamento integral do paciente. Infelizmente, estes protocolos são aplicados em poucos serviços, justificando as precárias condições de saúde bucal de grande parte dos pacientes com malignidades de cabeça e pescoço e, ainda, as frequentes indicações de exodontias após e, muitas vezes, durante a radioterapia (Sulaiman *et al.*, 2003; Koga *et al.*, 2008).

2.6. Estudos *in vitro* em dentes irradiados

Açil *et al.* (2005) comprovaram a existência de colágeno viável na matriz mineralizada do esmalte dentário bem como o fato de o colágeno não ser completamente reabsorvido da matriz de esmalte durante a mineralização e a maturação do esmalte. Esta descoberta pode ser de grande relevância para a

patogênese da cárie de radiação, já que as fibras colágeno de esmalte poderiam ser destruídas diretamente pela radiação.

Diversos estudos *in vitro* ou *in situ* que avaliaram a desmineralização e a dissolução de esmalte e dentina irradiados mostraram resultados contraditórios. Enquanto alguns trabalhos relatam que a dentina irradiada não é mais susceptível à cárie quando comparada à dentina não irradiada, outros permitem conclusões opostas. É importante mencionar que estes estudos não reproduzem de modo adequado todas as alterações clínicas que participam do desenvolvimento e da progressão da cárie de radiação, tampouco as respostas individuais de cada paciente aos efeitos da radioterapia (diferenças no fluxo salivar, composição da microbiota bucal, alterações na dieta e dose de radiação). Portanto, parece difícil avaliar, de um ponto de vista mais rigoroso, o processo multifatorial das cáries de radiação a partir de estudos de desmineralização e dissolução *in vitro* (Jansma *et al.*, 1988; Kielbassa 2000; Gernhardt *et al.*, 2004; Kielbassa, *et al.*, 2006).

2.7. Atualidades do tratamento do câncer de cabeça e pescoço

Para prevenir ou diminuir os já citados efeitos adversos da radioterapia, deveriam ser realizados cuidadosos planos de execução que diminuíssem a dose absorvida pelos tecidos sadios adjacentes, principalmente as glândulas salivares maiores, excluindo-as do campo a ser irradiado.

Neste sentido, protocolos de alta precisão para radioterapia, orientados com o auxílio de estudos por imagem com definição tridimensional (PET *scan*, ressonância magnética e tomografia computadorizada) do tecido a ser irradiado (alvo), têm sido desenvolvidos e usados para o tratamento de neoplasias malignas de cabeça e pescoço (Kielbassa *et al.*, 2006). No entanto, estes protocolos ainda não são acessíveis para a maioria dos países em desenvolvimento, como o Brasil, onde a maior parte dos pacientes com câncer de cabeça e pescoço é tratada no serviço público de saúde.

Nos últimos 40 anos, a despeito dos avanços tecnológicos e da implementação de programas terapêuticos multidisciplinares, pouco progresso foi conseguido no mundo todo, considerando a sobrevivência de pacientes tratados para câncer de cabeça e pescoço. Acresce dizer que as modestas taxas de sobrevivência destes pacientes têm sido atribuídas ao diagnóstico tardio (Shah, Singh, 2006).

As já citadas principais seqüelas da radioterapia se mostram cada vez mais preocupantes, uma vez que o manejo e o controle destes efeitos indesejáveis não evoluíram na mesma intensidade ou proporção que o aumento da tecnologia terapêutica. É claro que isso representa um efeito negativo importante na qualidade de vida dos pacientes tratados.

Por fim, acredita-se que o aumento da expectativa de vida da população mundial, somado ao aumento da conservação dos dentes na população idosa, e, por outro lado, a crescente incidência do câncer de boca em todo o mundo aumentará o número de casos de pacientes com necessidades odontológicas pré e pós-radioterapia, de maneira que o cirurgião-dentista encontrará com maior frequência cáries de radiação e outras seqüelas bucais (Shaw *et al.*, 2000; Ship, 2004; Kielbassa *et al.*, 2006).

Evidentemente, na validade dessa premissa, tornam-se cada vez mais importantes as pesquisas, a divulgação da literatura pertinente, os programas de educação em saúde bucal e a capacitação profissional com o objetivo de favorecer o diagnóstico precoce do câncer de boca e inserir o cirurgião-dentista, de um modo mais consciente e efetivo, no contexto do diagnóstico e tratamento das complicações bucais da radioterapia.

2.8. Tratamento da cárie de radiação

Pacientes pós-radioterapia apresentam um meio bucal extremamente desafiador para a odontologia restauradora, uma vez que entre eles, elevados índices de cáries são comuns, além disso, deterioração e falha das restaurações

ocorrem rapidamente nestes pacientes (Hu *et al.*, 2002; Mc Comb *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2005).

Em estudos que analisaram o comportamento e o tempo de duração de diversos materiais dentários restauradores em dentes de pacientes irradiados para tratamento de CEC, a razão mais comum para falhas das restaurações foi o deslocamento do material, sendo que cáries secundárias não foram encontradas nas margens das restaurações que se desprenderam (Hu *et al.*, 2002; Mc Comb *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2005). Estes indícios clínicos ajudam a sedimentar a idéia de que o embricamento mecânico entre a superfície dentária e o material restaurador pode estar prejudicado em dentes de pacientes irradiados, gerando uma menor retenção e conseqüente menor longevidade das restaurações, independentemente da ação de cáries secundárias.

A opção por um material restaurador apropriado é difícil dentro destas circunstâncias. O material ideal deveria ser adesivo à estrutura dental, prevenir cáries secundárias, resistir tanto à desidratação quanto à erosão ácida e ser de fácil manipulação (Hu *et al.*, 2002; Huber Terezhalmay, 2003).

Neste contexto o tema deste trabalho é considerado de extrema importância uma vez que, na literatura, poucas são as obras que se dedicam a estudar as características morfológicas histológicas e ultra-estruturais da cárie de radiação, em dentes oriundos de pacientes irradiados para tratamento de malignidades de cabeça e pescoço. Sobretudo em face do material e método aqui empregados.

Até porque, há a expectativa de que os resultados aqui expostos venham a contribuir, de maneira significativa, para a disseminação de conceitos e práticas importantes para esse tipo de tratamento bem como para a idealização de novas propostas de materiais restauradores para dentes irradiados. Afinal, ainda persistem na literatura divergências com relação ao melhor material restaurador para ser usado em dentes acometidos pela cárie de radiação, antes, durante ou ao final do tratamento radioterápico (Pankhurst *et al.*, 1996; Shaw *et al.*, 2000;

Andrews, Griffiths, 200; Hu *et al.*, 2002; Mc Comb *et al.*, 2002; Huber, Terezhalmay, 2003; Hu *et al.*, 2005).

2.9. Uso de microscopia de luz polarizada, microscopia eletrônica de varredura (elétrons retro-espalhados) e microanálise (espectroscopia de dispersão de energia) no estudo da cárie.

De modo complementar às técnicas convencionais de microscopia baseadas na iluminação comum, recorrem-se com freqüência às propriedades da luz polarizada, pelo fato de que podem orientar de modo mais específico a diferenciação e a identificação de áreas com estruturas diferentes em um mesmo tecido. A microscopia de luz polarizada (MLP) é uma técnica sensível que pode mostrar alterações nos tecidos duros, e que quando bem indicada, pode mostrar qualitativamente perda ou ganho mineral. Uma limitação desta técnica é que a qualidade das imagens obtidas é dependente do método de preparação dos espécimes (Arends, Bosch, 1992; Berger, 2007).

A análise de cáries em espécimes preparados por desgaste por meio da microscopia de luz convencional ou MLP costuma identificar e diferenciar dentina desmineralizada, esclerose dentinária, zona translúcida abaixo da dentina desmineralizada, tratos mortos dentinários e dentina sadia. Lesões incipientes e lesões experimentais avaliadas por microscopia convencional ou de luz polarizada mostram, freqüentemente, um padrão de desmineralização com formato característico de “meia-lua”, enquanto que lesões de cárie dentinária avançadas, especialmente aquelas que acometem a coroa dental, geralmente apresentam padrão de desmineralização em forma de um cone com o vértice voltado para a polpa e a base para a superfície, isto por conta do direcionamento dos canalículos dentinários (Consolaro, 1996; Arnold *et al.*, 2007).

Dentre os diversos métodos de análise baseados na microscopia eletrônica de varredura, aquele que parece ser o mais sensível para o estudo dos padrões de desmineralização em lesões de cárie é baseado no uso de detectores de

elétrons retro-espalhados. Estes detectores são utilizados para captar os elétrons gerados e devolvidos pela amostra após a interação do feixe de elétrons com os átomos da superfície, originando informações sobre a composição atômica do material. Este tipo de análise costuma ser utilizada quando há interesse em saber se existem diferentes substâncias na mesma amostra, pois os sinais gerados por elementos diferentes podem ser distinguidos com maior facilidade com este tipo de detector, sendo então chamadas de imagens por elétrons retro-espalhados (ERE) (Boyde, Jones, 1983; Goldstein *et al.*, 1991; Angker *et al.*, 2004; Arnold *et al.*, 2007).

A análise acurada de áreas próximas com características minerais distintas em um mesmo tecido, como acontece nas lesões de cárie e tecidos adjacentes não desmineralizados é possível, e o uso de imagens por ERE facilita esta distinção da área a ser analisada. Imagens por ERE são tradicionalmente usadas para estudar o estado de calcificação dos tecidos, pois o contraste das imagens (baseado nos níveis de cinza e suas variações) ocorre em função das variações do número atômico médio da amostra, sendo que minerais possuem um número atômico maior que outros componentes do tecido calcificado, como os componentes orgânicos e a água (Hietala *et al.*, 1993; Tjaderhane *et al.*, 1995).

Os níveis de cinza em ERE são determinados pelo nível de mineralização do tecido ou material estudado, assim, nos extremos, o branco representa as áreas mais mineralizadas (no caso do estudo de dentes, o esmalte) e o preto representa as áreas de baixa concentração mineral. Quando a concentração mineral de uma determinada área diminui, as cores mudam do branco para o preto (dentina desmineralizada). Assim, o uso de ERE para estudar lesões de cárie possibilita comparar diferentes espécimes e diferentes áreas do mesmo espécime no que diz respeito à densidade mineral com base nas alterações de cor (do branco para o preto), que representam alterações qualitativas na composição mineral. Portanto, a intensidade do nível de cinza em ERE está fortemente relacionada com o conteúdo de Cálcio, conteúdo mineral total, densidade mineral

e número atômico de tecidos calcificados (Hietala *et al.*, 1993; Tjaderhane *et al.*, 1995, Angker *et al.*, 2004; Mahoney *et al.*, 2004; Arnold *et al.*, 2007).

Lesões de cárie em ERE apresentam características próprias. São escuras quando comparadas à dentina sadia adjacente e ao esmalte, podendo-se identificar, na maioria das vezes uma camada externa ou superficial (caracterizada pelo aumento da densidade mineral), uma camada intermediária ou profunda (caracterizada pela diminuição do conteúdo mineral) e uma camada transparente ou esclerótica caracterizada pelo aumento da densidade mineral (Fusayama *et al.*, 1966; Johnson *et al.*, 1969; Fusayama, Kurosaki, 1972; Silverstone, Hicks, 1985; Fusayama, 1991). As bordas das lesões são bem definidas e os tons de cinza tornam-se mais brancos ao se afastar da cavidade, por isso, imagens ERE podem ser consideradas valiosas indicadoras de cárie. Entretanto, trata-se de uma técnica de alto custo, que consome bastante tempo e necessita de equipamento e de mão-de-obra especializados (Hietala *et al.*, 1993; Tjaderhane *et al.*, 1995, Arnold *et al.*, 2003; Angker *et al.*, 2004). A análise de cáries incipientes em espécimes preparados por desgaste por meio de ERE costuma ainda identificar e diferenciar padrões de desmineralização com formato característico de “meia-lua”, enquanto que lesões de cárie dentinária avançadas, especialmente aquelas que acometem a coroa dental, costumam apresentar padrão de desmineralização em forma de um cone com vértice voltado para a polpa e a base para a superfície, padrão também observado em análise por MLP (Consolaro, 1996; Arnold *et al.*, 2007).

Embora o uso de MLP em associação com ERE permita a inspeção visual das alterações qualitativas do conteúdo mineral durante o processo de cárie, ele não permite o estudo ou análise do conteúdo mineral exato nas lesões de cárie e tecidos adjacentes. Por isso, diversos trabalhos publicados complementam o estudo da cárie por MLP e ERE com a microanálise, que foi utilizada em tecido dentário pela primeira por Frank (1996). A microanálise permite a quantificação dos elementos presentes em um tecido, mesmo quando em pequena porcentagem (Arnold *et al.*, 2003; Angker *et al.*, 2004; Arnold *et al.*, 2007).

Quando o elétron da amostra é arrancado de seu orbital, o elétron do orbital imediatamente mais externo tem que preencher o orbital vazio, perdendo energia, que pode ocorrer na forma de um fóton de raio-X ou na forma de outro elétron que é ejetado. Os raios-x podem ser captados por uma sonda posicionada perto da amostra, sendo analisados e transformados em informações a respeito da composição química da amostra. Como cada elemento emite raios-x característicos, um equipamento de espectroscopia de dispersão de energia (EDS, na sigla em inglês) pode identificar a composição atômica da amostra. Em resumo, o reconhecimento dos elementos químicos é baseado na dispersão dos raios-x e a energia liberada pela interação com a amostra, daí esse tipo de microanálise, o mais usado para estudos em lesões de cárie, receber o nome de espectroscopia de dispersão de energia (Goldstein *et al.*, 1991, Kitajima, Leite, 1999; Arnold *et al.*, 2003).

MLP e ERE são importantes ferramentas para a detecção de alterações qualitativas em esmalte e dentina desmineralizados, apresentando uma boa correlação entre si, enquanto a microanálise combinada com ERE pode ser considerada como um método sofisticado para examinar alterações nos constituintes da dentina, mesmo em fases muito precoces do processo de cárie (Arnold *et al.*, 2001; Arnold *et al.*, 2003; Arnold *et al.*, 2007).

A razão entre o conteúdo mineral em porcentagem por peso de Cálcio (Ca) e Fósforo (P), calculada a partir da utilização da microanálise, reflete a composição mineral dos tecidos avaliados e esta razão varia nos tecidos biológicos mineralizados, considerando normal que na dentina esta razão varie de 1,7 a 2,4 (Arnold *et al.*, 2003).

A análise morfológica e o conteúdo mineral da dentina humana natural e dentina afetada por lesões de cárie são de grande interesse do ponto de vista do reparo baseado na bio-mineralização, assim como fundamental para a compreensão dos aspectos clínicos da cárie (Arnold *et al.*, 2003).

3. PROPOSIÇÃO

As finalidades desta dissertação encontram-se fundamentadas nos seguintes objetivos.

Objetivo geral:

Descrever as características morfológicas da cárie de radiação, por meio da análise macroscópica, radiográfica, histológica e ultra-estrutural. E analisar o conteúdo mineral de dentes que apresentaram cárie de radiação e que foram extraídos de pacientes que receberam radioterapia na região de cabeça e pescoço, correlacionando os achados morfológicos com as características clínicas dos pacientes. Por fim, a caracterização desta amostra será comparada com as informações publicadas a respeito da morfologia da cárie convencional, com o intuito de verificar se a patogênese da cárie de radiação é semelhante à da cárie convencional.

Objetivos específicos:

- Analisar as regiões ou zonas da cárie de dentina, o padrão de desmineralização e a presença ou ausência de dentina reacional, além de desmineralizações em esmalte utilizando MLP e ERE;
- Avaliar por microanálise (EDS) o conteúdo mineral do esmalte, da dentina sadia e da dentina desmineralizada humana acometida pela cárie de radiação, analisando as quantidades de Cálcio (Ca), Fósforo (P) e a relação entre o conteúdo destes dois minerais (Ca/P);
- Comparar a morfologia histológica, ultra-estrutural e o conteúdo mineral da cárie de radiação com as informações publicadas a respeito da morfologia e conteúdo mineral de cáries convencionais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Caracterização do material e coleta de dados dos pacientes

Para a utilização dos dentes humanos, o projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP, sob o protocolo 167/2006 (Anexo A).

Foram utilizados nesta dissertação trinta e seis dentes de onze pacientes com histórico de câncer, que se submeteram à radioterapia na região de cabeça e pescoço e apresentaram necessidade de extração dentária após a conclusão do protocolo de tratamento radioterápico.

Todos os pacientes foram atendidos pelo Departamento de Estomatologia da Fundação Antônio Prudente, Hospital do Câncer AC Camargo, São Paulo-SP – Brasil e todos os dentes estudados estavam dentro do campo de radiação. Logo após a extração, os dentes foram acondicionados em recipientes plásticos, com solução tamponada de formol a 10%. Todos os espécimes foram extraídos de acordo com as necessidades odontológicas individuais de cada paciente e os espécimes selecionados foram obtidos de pacientes que haviam concluído a radioterapia e que receberam doses de radiação acima de 50Gy.

Para a caracterização dos pacientes, cujos dentes foram utilizados nesta dissertação, o Serviço de Arquivo Médico (SAME) do Hospital do Câncer AC Camargo foi consultado, e por meio de um formulário apropriado (Anexo B) foram coletados os seguintes dados ou informações: idade, gênero, cor da pele, local do tumor primário, tabagismo, etilismo, tipo histológico do tumor, estadiamento clínico (TNM), quantidade total de radiação durante tratamento em Gy, dente que foi extraído, período de tempo entre início da radioterapia e a extração dentária, presença ou não do dente extraído no campo de radiação, presença ou não de pigmentação castanha no dente extraído, presença ou não das glândulas salivares maiores no campo de radiação, presença ou não de xerostomia (queixa do paciente), queixa do paciente de dor dentária associada aos dentes com cárie de

radiação, outras seqüelas da radioterapia, realização ou não de preparo odontológico pré-radioterapia.

4.2. Análise macroscópica e radiográfica do material

Todos os espécimes foram descritos e fotografados. Cada dente foi identificado e classificado de acordo com o grupo anatômico a que pertencia. Uma descrição morfológica macroscópica foi realizada com o intuito de descrever o grau de preservação da estrutura dentária (coroa e raiz), a presença de cárie e sua extensão clínica e, ainda, presença ou não de pigmentação castanha nas faces lisas.

Todos os espécimes foram radiografados de maneira padronizada. Cada dente foi posicionado, individualmente, em uma película radiográfica periapical para adultos, Kodak Ultra-speed (Eastman Kodak Company, Rochester, NY, USA), com a coroa voltada para o picote do filme. Foi utilizado um aparelho de raios-x (Toshiba XR 6010, 127V, 60KV, 10mAs, 60Hz), com tempo de exposição de 0,3s, e distância foco-filme de 15 cm. Todas as tomadas radiográficas foram reveladas no mesmo processador automático (Flat CO. LTD. JAPAN, Level 300).

4.3. Preparo das amostras

Os trinta e seis dentes foram limpos com curetas periodontais para remoção de restos de tecido mole. Cada dente foi seccionado longitudinalmente no plano vertical, no centro da lesão de cárie (Figura 1), com auxílio de um disco diamantado de alta concentração (Extec, Enfield, CT, USA) em cortadeira de precisão (Isomet 1000- Buehler Ltda., Lake Bluff, IL, USA). Em média 3 cortes de aproximadamente 100µm foram efetuados em cada dente. A superfície dos cortes foi polida com lixas de carbetto de silício (SiC) nas granulações 600, 1.200, 2.000 e 4.000 para planificação; além disso a padronização da espessura foi controlada com auxílio de um paquímetro digital.



Figura 1. Corte de um espécime do estudo que apresentou extensa cárie cervical, obtido por cortadeira de precisão. Aproximadamente 100 μ m de espessura.

4.4. Análise das regiões ou zonas da cárie de dentina, padrão de desmineralização da cárie de dentina, presença de dentina reacional e identificação de desmineralizações em esmalte por meio da microscopia de luz polarizada (MLP)

Para visualização dos espécimes em microscópio de luz polarizada (DM 5.000, Leica, Wetzlar, Germany), um corte de aproximadamente 100 μ m de cada dente, preparado como descrito no item 4.3., foi imerso em água deionizada e colocado em lâmina de vidro e sob esta, uma lamínula.

Em um aumento de 50x, foram analisadas desmineralizações em esmalte e as zonas de cárie em dentina, os padrões de desmineralização em dentina e a presença ou não de dentina reacional. Todas as imagens geradas foram capturadas por meio de uma câmera digital acoplada ao microscópio de luz

polarizada e analisadas com auxílio do programa de captura de imagens Leica Qwin.

4.5. Análise das regiões ou zonas da cárie de dentina, padrão de desmineralização da cárie de dentina e presença de dentina reacional por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando imagens por elétrons retro-espalhados (ERE)

Um corte de aproximadamente 100µm de cada amostra, preparado como descrito no item 4.3., foi utilizado para avaliação da superfície do esmalte e dentina acometida pela lesão de cárie. As amostras preparadas foram armazenadas em estufa a 40°C (Modelo 315 SE – Fanem, SP, Brasil) para secagem durante 12 horas, fixadas com auxílio de fita adesiva dupla face de carbono (Electron Microscopy Sciences, Washington 19034 - USA) em porta espécimes (*stubs*) de acrílico e cobertas por carbono usando-se o equipamento evaporador (Balzers SCD 050 *sputter coater*, Balzers Union Aktiengesellschaft, Furstentum Liechtenstein, FL-9496 - Germany), operando com corrente de 45mA, por 160 segundos.

Em seguida os espécimes foram analisados em microscópio eletrônico de varredura (JSM – 5600LV – JEOL LTD., Tokyo, Japan), com uso de elétrons retro-espalhados a uma aceleração de voltagem de 20KV, distância de trabalho (*work distance* – WD) de 10mm e abertura das lentes objetivas (*spotsize*) de 50nm com aumento de 50 vezes.

4.6. Análise do Conteúdo mineral do esmalte, dentina sadia e dentina desmineralizada por meio da microanálise baseada na espectroscopia de dispersão de energia (EDS)

Os espécimes analisados foram preparados de acordo com o item 4.5.

O sistema de microanálise Vantage, fabricado pela NORAN Instruments (Middleton, WI., USA), operando em associação com o MEV, possibilitou a quantificação de Cálcio (Ca) e Fósforo (P), obtida em porcentagem por peso de cada elemento em três áreas diferentes de cada tecido estudado nos espécimes, ou seja, foram feitas 3 quantificações em esmalte, 3 em dentina sadia e 3 em dentina desmineralizada (Figura 2). O tempo de contagem em cada área foi de 100 segundos, com *PHA deadtime* variando entre 20 e 25%.

A partir dos 3 valores de Ca e P obtidos de cada um dos tecidos estudados por espécime, foram calculados os valores médios de cada elemento químico em dentina sadia, dentina desmineralizada e esmalte sadio por espécime.

Por fim, foram calculamos ainda a razão Ca/P para cada tecido estudado em cada espécime e as médias gerais de Ca, de P e da razão Ca/P por tecido estudado. Estes resultados foram comparados entre si para determinar se existiu diferença no conteúdo mineral de Cálcio e Fósforo entre esmalte, dentina sadia e dentina desmineralizada, sendo analisados estatisticamente pelo teste ANOVA (2 critérios).

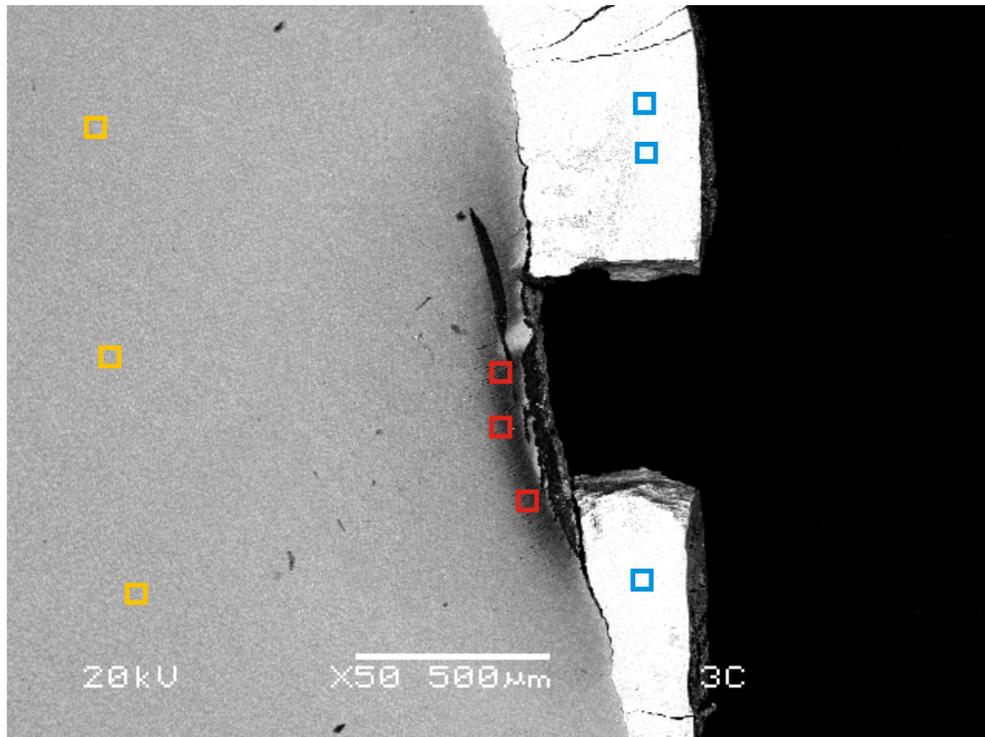


Figura 2. Imagem por elétrons retro-espalhados mostrando lesão de cárie afetando esmalte e dentina. Os quadrados amarelos marcam áreas em dentina sadia, quadrados vermelhos marcam áreas em dentina desmineralizada e os quadrados azuis marcam áreas de esmalte, todas representam as áreas examinadas pela microanálise (EDS) (ERE, 50X).

5. RESULTADOS

5.1. Perfil clínico dos pacientes

A média de idade dos pacientes estudados foi de 54,1 anos, variando entre 43 e 70 anos. Dez pacientes (90,91%) eram do gênero masculino e 1 (9,09%) era do gênero feminino.

A maioria dos pacientes relatou ser tabagista (81,82%) e consumir bebidas alcoólicas (54,54%), sendo que 6 pacientes (54,54%) revelaram fazer uso de álcool e tabaco concomitantemente. Apenas 1 paciente (9,09%) da amostra estudada negou usar tabaco ou consumir bebida alcoólica e em 1 caso (9,09%) não foi possível obter informações a respeito dos hábitos do paciente.

Os sítios anatômicos de maior frequência para o câncer de cabeça e pescoço na amostra estudada foram a língua, com 2 casos (18,19%), e a faringe, com outros 2. No momento do diagnóstico, dos onze pacientes estudados, 6 (54,54%) se encontravam em estágio avançado da doença (estádio III e IV) e 1 no estágio II; em 4 (36,37%) pacientes não foi possível obter o estadiamento clínico. Além disso, dez dos pacientes (90,91%) foram diagnosticados com carcinoma espinocelular em boca e 1 (9,09%) com osteossarcoma em mandíbula (Tabela 1).

Tabela 1. Perfil clínico dos pacientes utilizados neste estudo.

Paciente	Idade	Cor da pele	Gênero	Tabaco	Álcool	Sítio-primário	TNM	Tumor
1	63	Branca	M	Sim	Sim	Mandíbula	Desc	Osteossarcoma
2	70	Branca	M	Desc	Desc	Lábio inferior	T4N0M0	CEC
3	54	Negra	M	Sim	Sim	Faringe	T4N0M2	CEC
4	43	Branca	M	Sim	Sim	Língua	T2N0M0	CEC
5	53	Desc	M	Não	Não	Faringe	Desc	CEC
6	51	Branca	M	Sim	Sim	Língua	T2N1M0	CEC
7	51	Desc	M	Sim	Não	Amígdala	T3N1M0	CEC
8	52	Branca	M	Sim	Sim	Retromolar	T3N0M0	CEC
9	56	Branca	M	Sim	Não	Epiglote	Desc	CEC
10	51	Branca	M	Sim	Sim	Palato mole	T4N2M0	CEC
11	51	Branca	F	Sim	Não	Assoalho	Desc	CEC

CEC = carcinoma espinocelular; Desc = informação desconhecida; F = feminino; M = masculino.

Todos os pacientes da amostra foram submetidos à radioterapia com doses variando de 50 a 70,4 Gy. Importante citar que o paciente 4 recebeu dois ciclos de radioterapia: um primeiro ciclo de 61,4 Gy, para tratamento de CEC em borda lateral de língua, e um segundo ciclo de 68,4 Gy, para tratamento de segundo tumor primário (CEC) em borda lateral de língua, totalizando 129,8 Gy de radiação.

Seis (54,54%) dos onze pacientes receberam tratamento odontológico pré-radioterápico, com tempo de extração dental variando entre 12 e 120 meses após a conclusão da radioterapia.

Seis (54,54%) pacientes não relataram dor associada aos dentes extraídos, mesmo com a presença de lesões por cárie, ressalta-se que apenas 3 pacientes (27,27%) relataram dor associada aos dentes com cárie de radiação e em 2 casos (18,19%) não foram obtidas informações.

Alguns dos pacientes da amostra não foram tratados no Hospital do Câncer AC Camargo e procuraram atendimento apenas para manejo de complicações bucais da radioterapia. Foi possível observar efeitos colaterais bucais durante e após o tratamento radioterápico em 7 (63,63%) dos 11 pacientes, sendo que 27,27% dos pacientes apresentavam osteorradionecrose, saliva espessa, disgeusia, e xerostomia. Mucosite foi detectada em 18,19% dos casos e ainda em 9,09% dos pacientes da amostra foi observado candidose, trismo, disfagia e radiodermite. Todos os dentes que compõem esta amostra, assim como as glândulas salivares maiores dos pacientes encontravam-se dentro do campo de radiação conforme observado na Tabela 2.

As características clínicas dos pacientes que tiveram seus dentes extraídos e utilizados neste estudo estão resumidas na Tabela 1 e as características do tratamento realizado em cada um dos pacientes estão resumidas na Tabela 2.

Tabela 2. Informações do tratamento dos pacientes utilizados neste estudo.

Paciente	Dose de radiação (Gy)	Preparo odontológico pré-radioterapia	Efeitos colaterais	Tempo de extração (meses)	Dentes e glândulas salivares maiores dentro do campo de radiação
1	50,0	Desc	Não	12	Sim
2	50,0	Sim	O	120	Desc
3	60,4	Sim	SE	41	Sim
4	61,4 + 68,4	Sim	DISG, SE, C, X	99	Sim
5	70,0	Desc	T, O	89	Sim
6	66,4	Desc	Não	17	Sim
7	70,4	Sim	M, X	93	Sim
8	70,4	Sim	DISG, O, SE, DISF, C, M, RD, X	21	Sim
9	50,0	Desc	Não	Desc	Desc
10	60,4	Sim	Não	118	Sim
11	50,0	Desc	DISG, X	84	Desc

C = candidose; Desc = informação desconhecida; DISF = disfagia;

DISG = disgeusia; M = mucosite; O = osteorradição necrose; RD = radiodermite;

SE = saliva espessa; T = trismo; X = xerostomia.

5.2. Análise macroscópica e radiográfica do material

A análise efetuada mostrou que trinta e cinco (97,22%) dentes apresentavam cárie de radiação e 29 (80,55%) apresentavam pigmentação castanha em coroa ou raiz. A maioria dos dentes da amostra (41,67%) situou-se no grupo dos incisivos, sendo 3 incisivos superiores direitos, 4 incisivos superiores esquerdos, 2 incisivos inferiores esquerdos e 6 incisivos inferiores direitos. O segundo grupo de dentes predominante numericamente foi o de pré-molares (30,56%), sendo 1 pré-molar superior direito, 1 pré-molar superior esquerdo, 4 pré-

molares inferiores esquerdos e 2 inferiores direitos, 3 não foram classificáveis. Seis (16,66%) dos 36 dentes analisados eram caninos; 3 caninos superiores direitos e 3 superiores esquerdos. De resto, 2 molares revelaram-se não classificáveis enquanto outros 2 pertenciam ao quadrante superior direito, totalizando quatro (11,11%) molares na amostra. O resumo desta distribuição pode ser observado na Tabela 3 e na Figura 3.

Como resultados adicionais interessantes, 28 (77,77%) dos espécimes apresentaram características clínicas sugestivas de cárie acometendo a região cervical e 11 (30,55%) espécimes mostraram indícios clínicos de cárie acometendo a região incisal (Figura 4). Vinte e nove espécimes (80,55%) possuíam pigmentação castanha não cavitada em faces livres de esmalte ou terço cervical (Figura 5), 3 (8,33%) espécimes mostraram imagens sugestivas de dentina reacional na radiografia periapical (Figura 6) e 15 espécimes estavam restaurados.

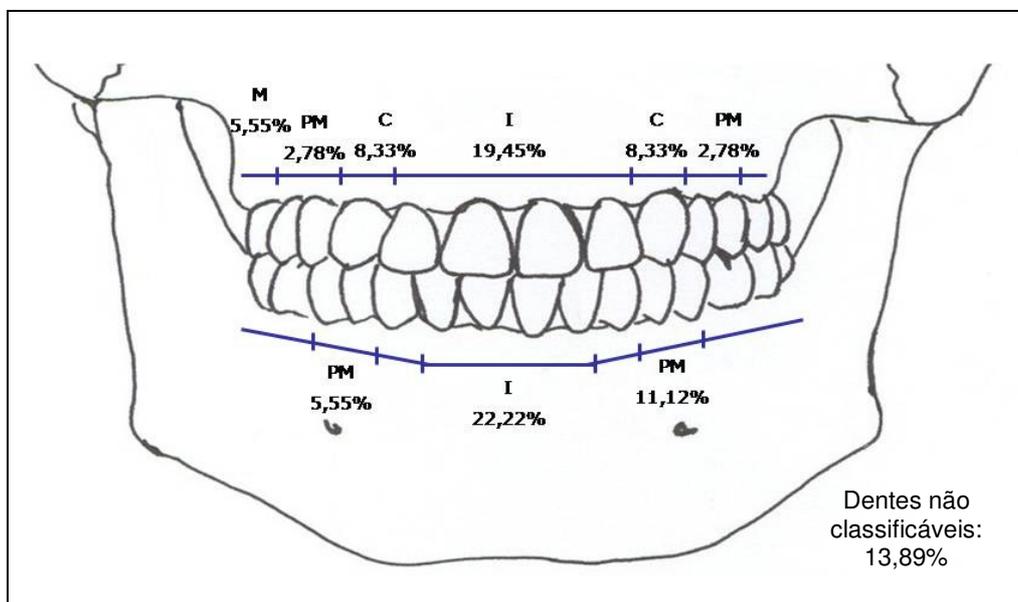


Figura 3. Distribuição dos dentes da amostra de acordo com a localização em maxila e mandíbula.



Figura 4. Dente anterior extraído de paciente irradiado. Cárie de radiação afetando a região cervical (CC) e a região incisal (CI).



Figura 5. Dente anterior extraído de paciente irradiado. Pigmentação castanha difusa na superfície vestibular do esmalte coronário evidenciada por círculo. O espécime também apresenta cavidade por cárie na região incisal (CI).

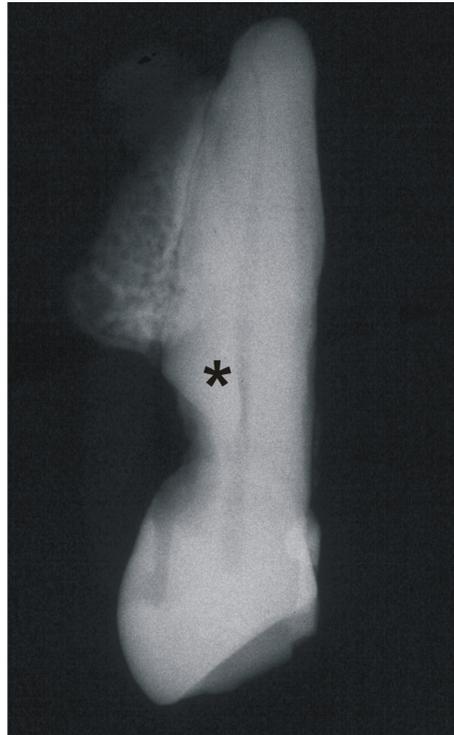


Figura 6. Radiografia periapical de dente afetado por cárie de radiação com fragmento de osso alveolar em raiz. Imagem sugestiva de dentina reacional (*) reduzindo o diâmetro do conduto pulpar e associada a extensa cárie cervical.

Tabela 3. Resumo das características clínicas dos dentes estudados.

Paciente	Dente	Cárie de radiação	Pigmentação castanha
1	Molar NC	Sim	Não
2	16	Sim	Não
	25	Sim	Não
3	12	Sim	Sim
	14	Sim	Sim
	22	Sim	Não
	23	Sim	Sim
	Molar NC	Sim	Sim
4	13	Sim	Não
	23	Não	Não
	PM NC (a)	Sim	Sim
	PM NC (b)	Sim	Sim
5	22	Sim	Sim
	41	Sim	Sim
	42	Sim	Sim
6	12	Sim	Sim
	13	Sim	Sim
	22	Sim	Sim
	23	Sim	Sim
	34	Sim	Sim
	35	Sim	Sim
	41	Sim	Sim
	42	Sim	Sim
	44	Sim	Sim
	45	Sim	Sim
7	13	Sim	Sim
	41	Sim	Não
	PM NC	Sim	Sim
8	12	Sim	Sim
	32	Sim	Sim
9	17	Sim	Sim
10	22	Sim	Sim
	32	Sim	Sim
	34	Sim	Sim
	42	Sim	Sim
11	34	Sim	Sim

M = molar; NC = não classificável; PM = pré-molar

A seguir é feita uma descrição das características macroscópicas e radiográficas de cada dente empregado nesta dissertação.

Paciente 1:

Apresentou molar não classificável, coroa afetada por cárie que se estendia para dentina coronária, dentina radicular, polpa e cimento. Imagem radiolúcida correspondente à lesão de cárie observada clinicamente, com extensão para dentina coronária e radicular, polpa e cimento.

Paciente 2:

Apresentou molar (16) com cálculo radicular, pequena cárie na face interproximal e cavitação radicular por cárie. Discreta imagem radiolúcida com extensão para dentina coronária e imagem radiolúcida em raiz vestibular, discreta imagem radiopaca radicular compatível com cálculo. Radiopacidade compatível com material restaurador coronário.

Apresentou pré-molar (25) com coroa sem cavitação, com presença de material restaurador no sulco oclusal, presença de cálculo radicular e coronário e discretas áreas de pigmentação castanha em esmalte e dentina cervical. Nenhuma alteração radiográfica importante, com exceção de uma discreta imagem radiopaca em coroa, região de esmalte, sugestiva de material restaurador.

Paciente 3:

Incisivo lateral (12) com pigmentações castanhas no esmalte e cimento, fratura e cavitação incisal por cárie. Imagem radiolúcida com extensão para dentina na região incisal.

Pré-molar (14) com maior parte da coroa destruída por cárie cervical da face lingual com extensão ao esmalte, dentina coronária, dentina radicular, polpa e cimento. Cárie na face vestibular e pigmentações castanhas em esmalte e

cimento. Imagem radiolúcida com extensão para dentina coronária e radicular, cimento e polpa.

Incisivo lateral (22) com desgaste e cárie incisal e cálculo radicular. Cárie de esmalte nas faces lingual e interproximal. Nenhuma alteração radiográfica importante.

Canino (23) com desgaste e cárie incisal, pigmentações castanhas em esmalte e raiz. Cárie de esmalte em face interproximal distal. Imagem radiolúcida com extensão a dentina coronária e radicular na face proximal distal e radioluscência com extensão para esmalte no terço incisal.

Molar não classificável com destruição coronária por cárie, cálculo radicular, pigmentações castanhas em coroa e raiz. Imagem radiolúcida cervical com extensão para dentina e discreta imagem radiopaca compatível com cálculo em raiz.

Paciente 4:

Canino (13) com cárie cervical em face mesial de coroa e raiz, fragmento de osso alveolar aderido à raiz. Imagem radiolúcida proximal mesial que se estende para dentina coronária e radicular. Aparente atresia do conduto radicular na região adjacente à área radiolúcida, compatível com deposição de dentina reacional e imagem radiopaca associada à raiz, compatível com osso alveolar.

Canino (23), dente hígido com fragmento de osso alveolar aderido à raiz na face proximal distal. Discreta imagem radiolúcida em cimento das faces vestibular e lingual (região cervical) e imagem radiopaca associada à raiz, compatível com osso alveolar.

Pré-molar não classificável (a) com cárie em toda circunferência cervical do dente envolvendo esmalte coronário e cimento radicular com áreas de pigmentação castanha em coroa e raiz, cálculo e restauração. Imagem radiopaca compatível com material restaurador em coroa, imagem radiolúcida cervical com extensão para dentina.

Pré-molar não classificável (b) com cárie e pigmentação castanha cervical em toda circunferência radicular. Cavitação por cárie em cúspide vestibular, restauração MOD em amálgama e ausência de raiz. Imagem radiolúcida cervical com extensão para esmalte coronário e dentina radicular, área radiopaca em coroa compatível com amálgama.

Paciente 5:

Incisivo lateral (22) com cavidade por cárie em região cervical envolvendo cimento e coroa, pigmentação castanha em esmalte e desgaste incisal. Imagem radiolúcida radicular proximal estendendo-se para dentina.

Incisivo central (41) com pigmentações castanhas e cavidade por cárie nas regiões cervicais das faces vestibular e lingual. Discreta fratura de esmalte na face incisal e imagem radiolúcida cervical com extensão para dentina nas faces vestibular e lingual.

Incisivo lateral (42) com extensa cavidade por cárie em região cervical na face vestibular e nas faces proximais, com pigmentação castanha adjacente. Imagem radiolúcida cervical com extensão para esmalte e dentina radicular.

Paciente 6:

Incisivo lateral (12) com pigmentação castanha envolvendo toda região cervical e face lingual do esmalte, compatível com cárie. Fratura incisal pigmentada e com cárie. Discreta imagem radiolúcida cervical bilateral e em terço incisal da coroa com extensão para dentina.

Canino (13) apresenta coroa com desgaste incisal e cárie incisal. Lesões de cárie cervicais em face mesial e lingual. Pigmentação castanha na cervical da face vestibular. Imagem radiolúcida na região cervical do dente e no terço incisal da coroa estendendo-se para esmalte e dentina radicular. Discreta imagem radiopaca que sugere atresia do conduto pulpar compatível com deposição de dentina reacional associada a cárie radicular.

Incisivo lateral (22) com cárie e pigmentação castanha na região cervical e fratura no terço incisal da coroa. Discreta imagem radiolúcida em região cervical, face distal e terço incisal da coroa se estendendo para dentina.

Canino (23) com cárie e pigmentação castanha na região cervical da face mesial. Desgaste e cárie na porção distal do terço incisal. Imagem radiolúcida na região cervical, face mesial se estendendo para dentina.

Pré-molar (34) exibindo coroa com pigmentação castanha e superfície rugosa, compatível com cárie na região cervical, face lingual, face vestibular e incisal. Discreta imagem radiolúcida na região cervical e nas faces proximais.

Pré-molar (35) com pigmentação castanha e superfície rugosa compatível com cárie na região cervical e incisal. Imagem radiolúcida cervical da face distal se estendendo para esmalte e dentina coronários.

Incisivo (41) com fratura no terço incisal da coroa e pigmentação castanha, rugosa, compatível com cárie em toda região cervical. Discreta imagem radiolúcida nas faces proximais cervicais e no terço incisal da coroa.

Incisivo (42) com fratura do terço incisal da coroa associada a pigmentação castanha de superfície rugosa, compatível com cárie incisal. Pigmentação castanha em toda região cervical. Discreta imagem radiolúcida nas faces proximais cervicais e no terço incisal da coroa.

Pré-molar (44) com faceta de desgaste incisal, rugosidade superficial e pigmentação cervical compatíveis com cárie. Discretas imagens radiolúcidas na região cervical das faces proximais.

Pré-molar (45) com cárie em região cervical da face lingual e pigmentações castanhas em toda região cervical. Imagem radiolúcida em região cervical se estendendo para dentina.

Paciente 7:

Canino (13) com coroa desgastada e sem morfologia, pigmentação castanha em todo remanescente de esmalte, fragmento de osso alveolar

associado à raiz. Imagem radiolúcida cervical se estendendo para conduto pulpar radicular e imagem radiopaca associada à raiz, compatível com osso alveolar.

Incisivo (41) com desgaste incisal e cárie cervical nas faces vestibular e lingual. Imagem radiolúcida cervical se estendendo para dentina e área radiopaca em coroa compatível com material restaurador (resina composta).

Pré-molar não classificável com extensa fratura coronária e pigmentação castanha cervical. Cárie radicular e discreta imagem radiolúcida cervical se estendendo para dentina. Áreas radiopacas gerando atresia do conduto pulpar compatível com deposição de dentina reacional, associada à área de cárie radicular.

Paciente 8:

Incisivo (12) com restauração coronária indireta metalo-cerâmica, cárie e pigmentação castanha nas margens da restauração. Imagem radiolúcida em coroa e conduto pulpar com área radiopaca, compatível com material restaurador metálico (pino radicular) e tratamento endodôntico obturador. Discretas imagens radiolúcidas nas margens cervicais da restauração.

Incisivo (32) com extensas restaurações coronárias em resina composta, presença de pigmentações castanhas cervicais e radiculares, lesões de cárie cervicais. Imagens radiopacas compatíveis com material restaurador em coroa, áreas radiolúcidas em esmalte e dentina adjacentes às restaurações coronárias.

Paciente 9:

Molar (17) com coroa restaurada por amálgama, cavidade por cárie proximal e pigmentações castanhas cervicais e cálculo radicular. Presença de imagem radiopaca em coroa sugestiva de material restaurador, discretas áreas radiolúcidas em esmalte e dentina coronária.

Paciente 10:

Incisivo (22) com cárie e pigmentação castanha radicular e coronária, material restaurador coronário e fragmento de osso alveolar em raiz. Imagens radiolúcidas se estendendo para dentina na cervical das faces proximais e imagem radiopaca associada à raiz, compatível com osso alveolar.

Incisivo (32) com pigmentação castanha em raiz e coroa, lesão de cárie profunda em região cervical da face lingual e fragmento de osso alveolar na raiz. Imagem radiolúcida cervical se estendendo para conduto pulpar, áreas radiopacas coronárias compatíveis com material restaurador e imagem radiopaca associada à raiz, compatível com osso alveolar.

Pré-molar (34) com extensa restauração coronária em resina composta, área de cárie e pigmentação castanha em esmalte nas margens das restaurações. Extensa imagem radiopaca cervical compatível com resina composta.

Incisivo (42) com desgaste incisal associado a pigmentação castanha e extensa área coronária restaurada por resina composta, cárie proximal em esmalte, dentina e cimento; fragmento de osso alveolar em raiz. Extensa imagem radiopaca compatível com resina composta em coroa e raiz, imagem radiolúcida proximal se estendendo para dentina e área radiopaca associada à face externa da raiz compatível com osso alveolar residual.

Paciente 11:

Pré-molar (34) com restauração em amálgama na coroa e cervical, cárie em face proximal da coroa, raiz e região cervical, pigmentação castanha cervical. Extensa imagem radiolúcida radicular se estendendo para dentina e imagem radiopaca em coroa compatível com amálgama.

5.3. Análise das regiões ou zonas da cárie de dentina, padrão de desmineralização da cárie de dentina, presença de dentina reacional e identificação de desmineralizações em esmalte por meio da microscopia de luz polarizada (MLP)

Com o uso da MLP, evidências de desmineralização e diferentes zonas de cárie em dentina puderam ser observadas em praticamente todos os espécimes. Remanescentes de dentina amolecida, dentina desmineralizada, esclerose dentinária e zona translúcida com níveis de preservação variáveis foram encontradas na maior parte dos espécimes estudados. Em alguns casos, foram encontrados tratos mortos dentinários em proximidade à zona translúcida (Figuras 7 e 8).

Outras informações interessantes geradas pela MLP foram a presença de cárie incisal em 10 (27,77%) dos 36 espécimes avaliados (Figura 9) e a presença de evidências de desmineralização abaixo de restaurações, compatíveis com cáries secundárias (Figura 10), em 07 dos 09 espécimes avaliados que possuíam restaurações que resistiram ao preparo das amostras (dos 15 espécimes que apresentaram restauração ao exame macroscópico, 09 resistiram ao preparo para MLP), ou seja, 77,77% das amostras que possuíam restauração na MLP apresentaram indícios histológicos de recidiva de cárie abaixo da restauração. Foi possível observar ainda, nas imagens por MLP, 8 (22,22%) espécimes com dentina reacional no conduto pulpar adjacente a lesões de cárie (Figura 11).

Na análise por MLP foram observadas áreas de desmineralização superficial em esmalte não cavitado, caracterizadas por manchas de cor castanha ou enegrecida (Figura 12), que correspondiam clinicamente à pigmentação castanha na superfície lisa do esmalte de dentes anteriores, descrita na análise macroscópica. Lesões de cáries cervicais incipientes de dentina mostraram em MLP um padrão de desmineralização com formato semelhante a meia-lua (Figura 13).

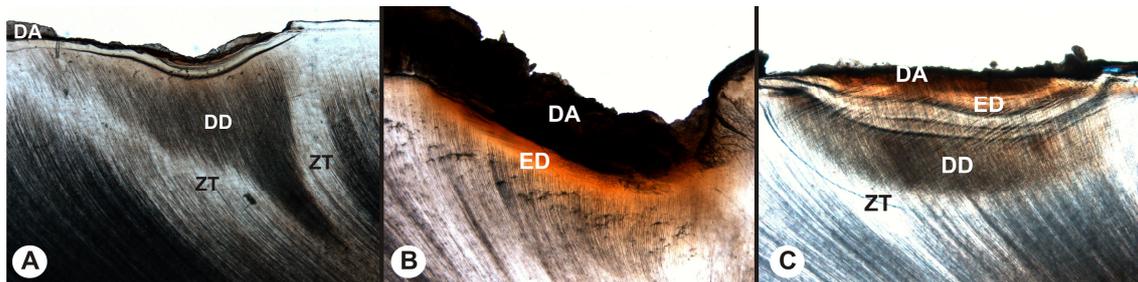


Figura 7. Imagem por microscopia de luz polarizada mostrando diferentes áreas ou zonas de cárie. A. Padrão de desmineralização com formato cônico de vértice voltado para polpa e base para superfície. Zona translúcida (ZT). B. Extensa área de esclerose dentinária de cor castanha (ED). C. Presença de dentina desmineralizada de cor castanha escura (DD). DA = dentina amolecida na superfície dos três espécimes (MLP, 50X).

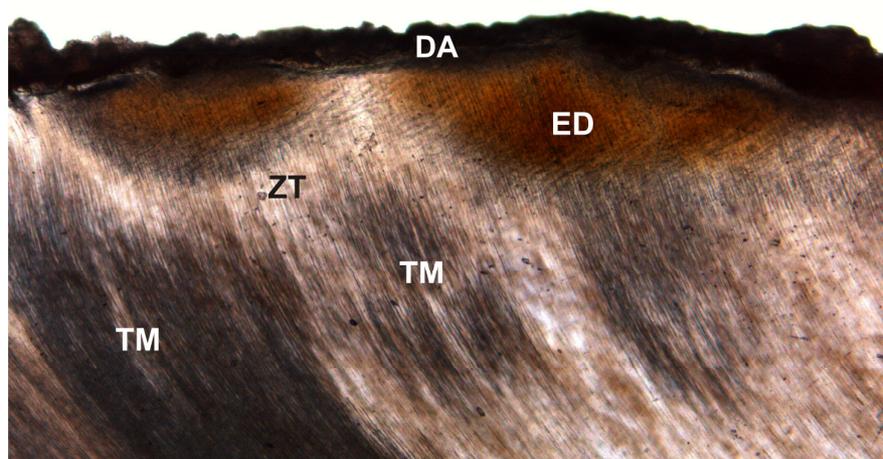


Figura 8. Imagem por microscopia de luz polarizada mostrando lesão incipiente em dentina com presença de dentina amolecida (DA), esclerose dentinária (ED), zona translúcida (ZT) e tratos mortos dentinários (TM) (MLP, 50X).

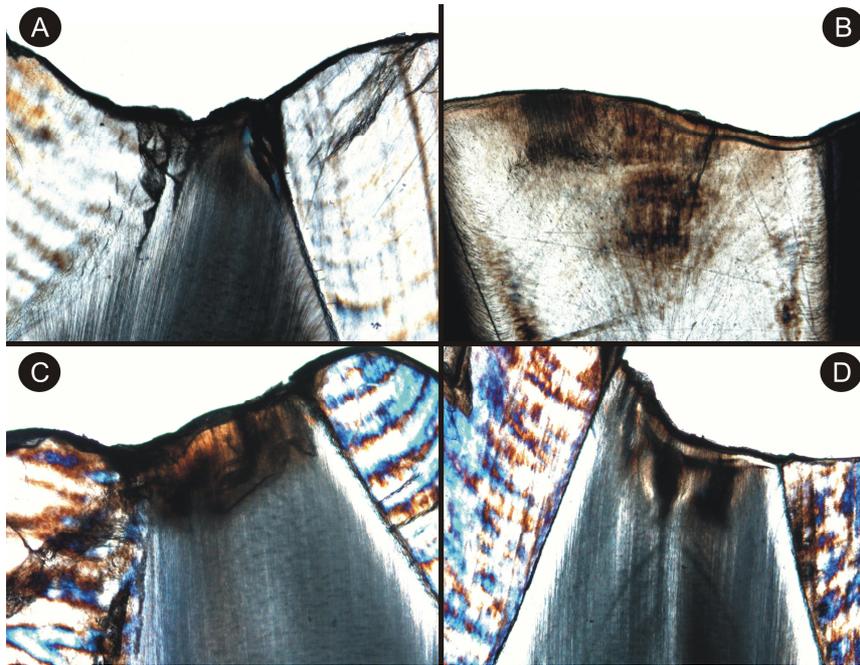


Figura 9. Imagem por microscopia de luz polarizada exibindo quatro espécimes com evidências de desmineralização superficial em dentina (áreas castanhas), compatíveis com cárie incisal (MLP, 50X).

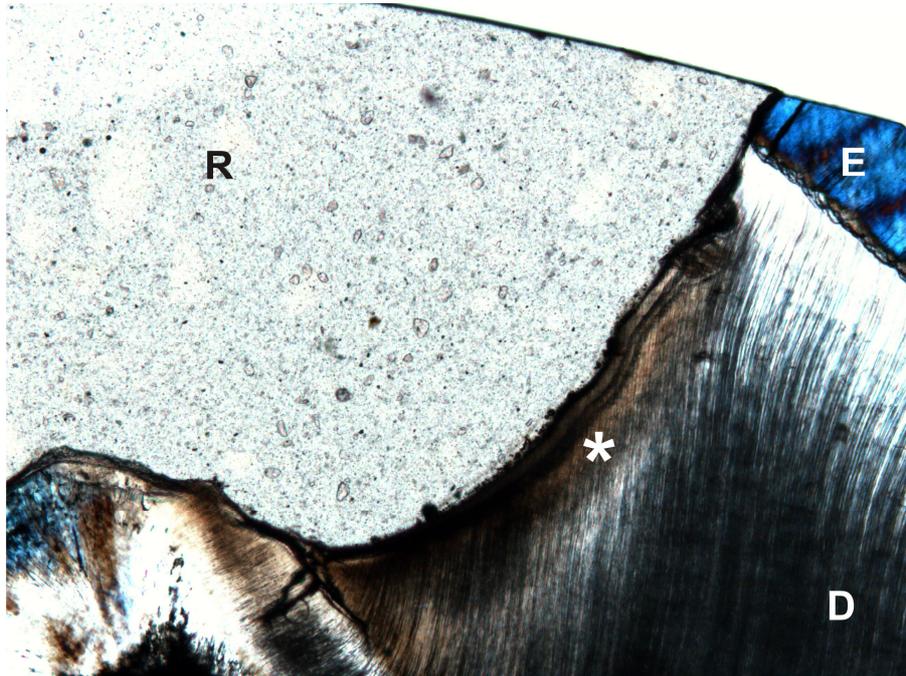


Figura 10. Imagem por microscopia de luz polarizada exibindo área branca compatível com material restaurador (R), esmalte (E) e dentina (D). Os limites do material restaurador se apresentam em contato com dentina desmineralizada (*), compatível com cárie secundária. Presença de discreta esclerose dentinária e zona translúcida (MLP, 50X).

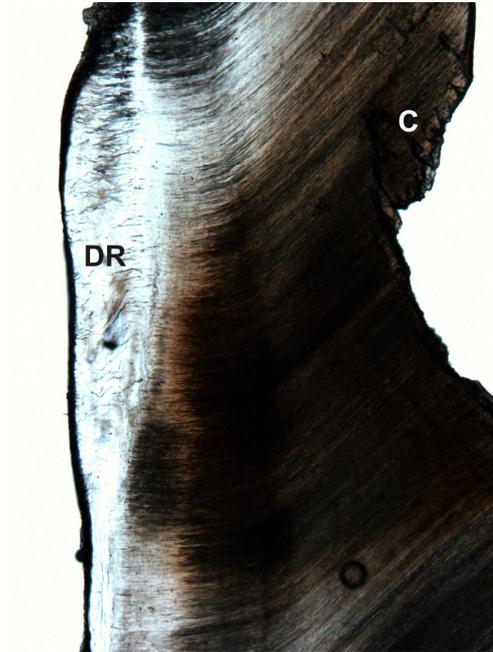


Figura 11. Imagem por microscopia de luz polarizada exibindo dentina reacional (DR) na parede interna do conduto pulpar, associada a extensa desmineralização por cárie cervical (C). Na dentina reacional pode ser observada pequena quantidade de canálculos dentinários, que se apresentam distribuídos de modo desordenado (MLP, 50X).

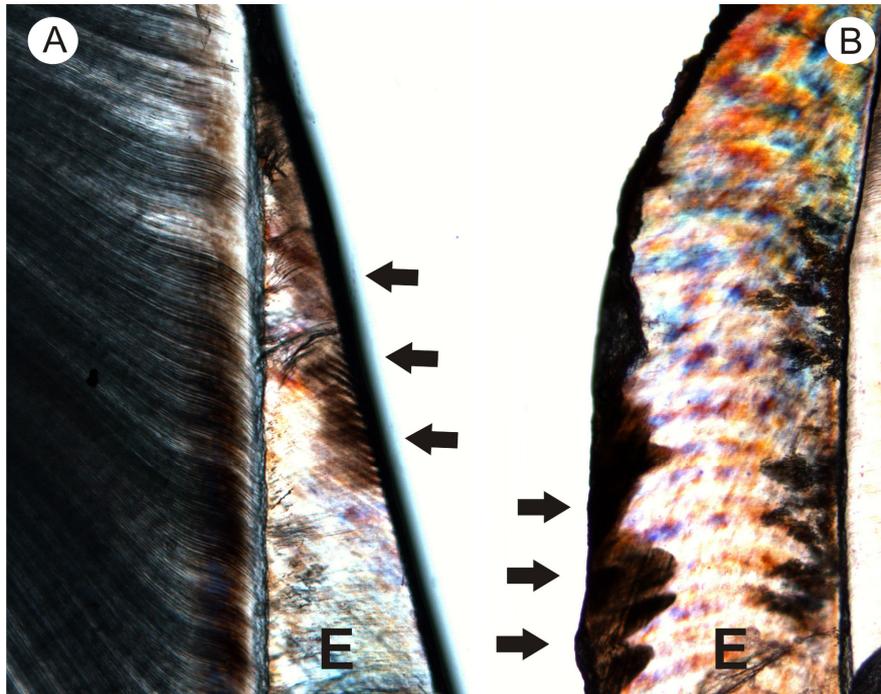


Figura 12. Imagem por microscopia de luz polarizada exibindo desmineralizações superficiais (setas) em esmalte não cavitado de dois espécimes, caracterizadas por manchas infiltrativas de cor castanha escura e acentuação das estrias transversais do esmalte. Estas desmineralizações correspondem clinicamente a áreas castanhas nas faces lisas de esmalte, como a evidenciada por círculo na Figura 5. E = esmalte (MLP, 50X).

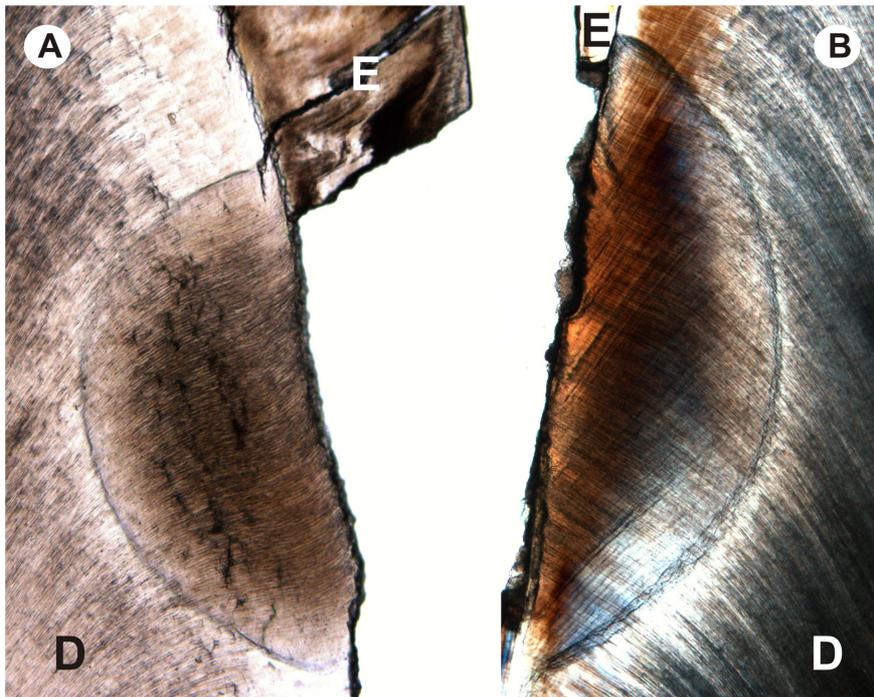


Figura 13. Imagem por microscopia de luz polarizada exibindo dois espécimes com padrão de desmineralização mostrando um formato semelhante a meia-lua em lesões cervicais de cárie incipiente. D = dentina, E = esmalte (MLP, 50X).

Abaixo estão descritos individualmente os padrões de desmineralização da cárie de radiação no material analisado.

Paciente 1:

Molar não classificável com cárie em dentina mostrando áreas acastanhadas sub-superficiais que correspondem à esclerose dentinária. Dentina desmineralizada e zona translúcida subjacente marcada por linha transparente. Áreas de esmalte residual sadio. Em região adjacente ao esmalte cervical foi notada área bem delimitada de formato semelhante a meia-lua, compatível com cárie cervical incipiente, contendo dentina esclerosada acastanhada.

Paciente 2:

Molar (16) com lesões de cárie dentinária cervicais caracterizadas por dentina superficial amolecida, áreas castanhas de desmineralização dentinária com padrão semelhante a meia-lua e zona translúcida evidente, com presença de tratos mortos dentinários. O esmalte apresentou ausência de cavitação e discretas áreas de desmineralização (manchas castanhas e enegrecidas na superfície do esmalte), além de áreas com esmalte socavado na porção cervical acometida por cárie de dentina caracterizada por dentina amolecida superficial e desmineralização dentinária acastanhada. Imagem escura, enegrecida, correspondente a material restaurador coronário exibiu desmineralização acastanhada e dentina translúcida em sua margem inferior, compatível com cárie secundária. Não foram todas as áreas desmineralizadas que apresentaram dentina translúcida associada.

Pré-molar (25) com presença de imagem enegrecida, compatível com material restaurador em fossa oclusal de esmalte e discreta imagem castanha em esmalte adjacente a esta restauração, compatível com desmineralização sub-restauração (cárie secundária). Na região cervical, no limite esmalte-cimento, também se observou imagem enegrecida associada a desmineralização sub-superficial em esmalte e dentina.

Paciente 3:

Incisivo lateral (12) com cavitação em esmalte e lesões de cárie em dentina com formato semelhante a meia-lua, exibindo dentina desmineralizada, dentina esclerótica bem delimitada, zona translúcida e tratos mortos na região cervical do dente. Áreas de desmineralização evidentes estavam presentes na região incisal, com cavitação e desmineralização em esmalte, dentina esclerosada acastanhada subjacente ao esmalte afetado com extensão para junção amelo-dentinária e dentina adjacente e presença de discretas áreas de zona translúcida.

Pré-molar (14) com cárie incipiente de esmalte não cavitada, exibindo microscopicamente manutenção da camada superficial, zona escura e zona

translúcida, correspondendo clinicamente às pigmentações castanhas nas superfícies livres de esmalte. Cárie em dentina com presença de dentina superficial amolecida, dentina desmineralizada e zona translúcida.

Incisivo lateral (22) com cárie de esmalte, manutenção parcial da camada superficial, zona escura, zona translúcida e acentuação das estrias transversais dos prismas de esmalte. Destruição e cavitação por cárie em esmalte nas faces lingual e interproximal associadas a dentina esclerosada abaixo do esmalte cariado, zona translúcida e tratos mortos, formando uma cárie com arranjo cônico de vértice voltado para polpa e base para junção amelodentinária. Cárie acometendo porção incisal, exibindo dentina desmineralizada superficial e dentina esclerosada de cor castanha entre o esmalte incisal.

Canino (23) com cárie causando destruição de esmalte, esclerose dentinária de cor castanha abaixo do esmalte afetado pela cárie, zona translúcida e tratos mortos na região cervical, na porção incisal do dente foi observada discreta esclerose dentinária de cor castanha e ausência de zona translúcida. Cárie envolvendo cemento radicular e se estendendo para dentina, caracterizada por destruição superficial do cemento e discreta esclerose dentinária, originando pigmentação castanha na porção radicular do dente, descrita na análise macroscópica.

Molar não classificável com destruição coronária por cárie caracterizada por dentina superficial amolecida, esclerose dentinária acastanhada e discreta zona translúcida, formando lesão de cárie em dentina com arranjo cônico de vértice voltado para polpa e base para junção amelodentinária.

Paciente 4:

Canino (13) com cárie incipiente de esmalte cervical, manutenção parcial da camada superficial, zona escura e acentuação das estrias transversais dos prismas de esmalte. Cavitação em cemento e dentina cervical com dentina superficial amolecida, dentina desmineralizada, zona translúcida evidente, tratos mortos dentinários e presença de dentina reacional formada por canalículos

dentinários distribuídos de modo desordenado, justificando imagem radiográfica sugestiva de atresia do conduto radicular na região adjacente à área radiolúcida.

Canino (23) com ausência de cárie no corte examinado com padrão normal de esmalte e estrutura dentinária preservada. Material restaurador perdido durante preparo da amostra.

Pré-molar não classificável (a) com região cervical que exibiu dentina desmineralizada bem delimitada de formato semelhante a meia-lua, esclerose dentinária, discreta zona translúcida e tratos mortos dentinários.

Pré-molar não classificável (b) com cárie em região cervical exibindo dentina desmineralizada, esclerose dentinária e zona translúcida evidente. Fragmento de esmalte desmineralizado superficialmente (coloração enegrecida) associado a área de desmineralização em dentina, com esclerose dentinária e tratos mortos, ambos formando o soalho de um preparo cavitário sem a presença de material restaurador (perdido durante preparo do espécime), compatível com cárie secundária.

Paciente 5:

Incisivo lateral (22) com cárie cervical bilateral com superfície exibindo dentina desmineralizada, zona translúcida, tratos mortos dentinários e presença de dentina reacional bilateral, diminuindo o diâmetro da cavidade pulpar e constituída por canalículos dentinários distribuídos de modo desordenado.

Incisivo central (41) com cárie cervical exibindo abundante esclerose dentinária superficial, dentina desmineralizada, tratos mortos dentinários e discreta zona translúcida.

Incisivo lateral (42) com extensas cavidades cervicais por cárie caracterizadas microscopicamente por esclerose dentinária, zona translúcida e tratos mortos dentinários.

Paciente 6:

Incisivo lateral (12) com cárie incisal caracterizada por dentina superficial amolecida, dentina desmineralizada e erosão da camada de esmalte na região cervical, com cárie na dentina subjacente caracterizada microscopicamente por discreta esclerose dentinária, zona translúcida e tratos mortos dentinários.

Canino (13) com cárie incisal caracterizada microscopicamente por dentina superficial desmineralizada, esclerose dentinária, zona translúcida e tratos mortos dentinários, formando pequena lesão de cárie em dentina com arranjo cônico de vértice voltado para polpa e base para superfície. Lesões de cárie cervicais incipientes em dentina adjacentes a esmalte cervical não cavitado, caracterizadas por áreas bem delimitadas contendo dentina esclerosada acastanhada de formato semelhante a meia-lua e zona translúcida, correspondendo clinicamente às pigmentações castanhas na cervical da face vestibular do dente.

Incisivo lateral (22) com lesões de cárie cervicais incipientes em dentina adjacente a esmalte cervical não cavitado, formadas por áreas bem delimitadas contendo dentina esclerosada acastanhada de formato semelhante a meia-lua e contendo também zona translúcida, esta descrição microscópica corresponde clinicamente à pigmentação castanha na região cervical. No esmalte coronário, especialmente na área incisal foi observado esmalte normal, porém, apresentando fraturas generalizadas.

Canino (23) com lesão incipiente de cárie cervical em dentina caracterizada por área bem delimitada contendo dentina esclerosada acastanhada e zona translúcida, associada à cárie cervical notou-se deposição de dentina reacional formada por poucos canalículos dentinários distribuídos de modo desordenado. Também exibiu cárie incisal caracterizada por dentina superficial desmineralizada e esclerose dentinária acastanhada, com discreta erosão da camada de esmalte na região incisal adjacente à cárie na dentina.

Pré-molar (34) com lesão incipiente de cárie cervical em dentina adjacente a esmalte cervical caracterizada por área bem delimitada contendo dentina superficial desmineralizada e esclerose dentinária de cor acastanhada, com

formato semelhante a meia-lua, sendo possível observar ainda zona translúcida e tratos mortos dentinários. Foi observada, ainda, imagem compatível com cárie incisal, caracterizada microscopicamente por dentina superficial desmineralizada e esclerose dentinária de cor acastanhada, embora zona translúcida e tratos mortos dentinários não tenham sido observados.

Pré-molar (35) com cárie incisal caracterizada microscopicamente por esclerose dentinária superficial de cor acastanhada, zona translúcida e tratos mortos dentinários, formando lesão de cárie em dentina com discreto arranjo cônico de vértice voltado para polpa e base para superfície. Notou-se, ainda, lesão de cárie cervical incipiente em dentina adjacente ao esmalte cervical não cavitado, porém desmineralizado. A lesão em dentina mostrou área bem delimitada de dentina esclerosada acastanhada de formato semelhante a meia-lua e zona translúcida, correspondendo clinicamente à pigmentação castanha presente em toda região cervical deste espécime.

Incisivo (41) com cárie incipiente na dentina adjacente ao esmalte cervical não cavitado, porém, este esmalte apresentou desmineralização superficial caracterizada por áreas enegrecidas. A lesão em dentina se apresentou bem formada por área bem delimitada de dentina esclerosada acastanhada, zona translúcida e tratos mortos dentinários, correspondendo clinicamente à pigmentação castanha presente em toda região cervical deste espécime. A presença de dentina reacional associada a cárie cervical foi observada e constituída por canalículos dentinários distribuídos de modo desordenado.

Incisivo (42) com cárie incisal apresentando esclerose dentinária superficial de cor acastanhada, tratos mortos dentinários e ausência de zona translúcida. Esmalte cervical com indícios de desmineralização superficial caracterizado por áreas enegrecidas e presença de cárie incipiente em dentina cervical, formada por área bem delimitada de dentina esclerosada acastanhada, zona translúcida e tratos mortos dentinários, correspondendo clinicamente à pigmentação castanha presente em toda região cervical deste espécime. A presença de dentina reacional, pobre em canalículos, foi observada em associação à cárie cervical.

Pré-molar (44) com cárie incisal caracterizada microscopicamente por dentina desmineralizada superficial, esclerose dentinária de cor acastanhada, discreta zona translúcida e tratos mortos dentinários. Presença também de cárie cervical incipiente destruindo cimento e afetando dentina com área bem delimitada composta de dentina desmineralizada, esclerose dentinária, zona translúcida e tratos mortos correspondendo clinicamente à pigmentação cervical.

Pré-molar (45) com cárie cervical incipiente destruindo cimento e afetando dentina em área bem delimitada, de formato semelhante a meia-lua, composta por dentina desmineralizada, esclerose dentinária, tratos mortos e zona translúcida.

Paciente 7:

Canino (13) com extensa lesão de cárie composta microscopicamente por dentina desmineralizada, esclerose dentinária, zona translúcida e tratos mortos dentinários. Associada a esta lesão, mais profundamente e em proximidade com a polpa, existe dentina reacional com escassos túbulos dentinários distribuídos de modo aleatório.

Incisivo (41) com cárie incipiente na região cervical envolvendo cimento e dentina, marcada pela presença de esclerose dentinária. Presença de imagem esbranquiçada composta de estruturas semelhantes a cristais e adjacente a esmalte e dentina compatível com material restaurador. Os limites inferiores e laterais do material restaurador se apresentam em contato com dentina e apresentam evidente desmineralização compatível com cárie secundária abaixo da restauração e presença de esclerose dentinária e zona translúcida.

Pré-molar não classificável com desmineralização em esmalte caracterizada por áreas acastanhadas superficiais, lesões de cárie cervicais caracterizadas pela presença de dentina superficial desmineralizada, esclerose dentinária, zona translúcida e dentina reacional com túbulos dentinários distribuídos de modo irregular, se estendendo para cavidade pulpar, justificando as áreas radiopacas observadas na radiografia periapical que mostraram conduto

pulpar atrésico, compatível com deposição de dentina reacional, associada à área de cárie radicular.

Paciente 8:

Incisivo (12) com extensa lesão de cárie composta microscopicamente por esclerose dentinária e zona translúcida nas margens do preparo cavitário. O material restaurador foi perdido durante o preparo do espécime.

Incisivo (32) com extensa lesão de cárie cervical composta microscopicamente por dentina amolecida superficial, esclerose dentinária e zona translúcida nas margens do preparo cavitário. Imagem esbranquiçada composta por estruturas semelhantes a cristais, compatível com material restaurador e a dentina que faz limite com este material se apresenta desmineralizada (cor acastanhada), sendo sugestiva de cárie secundária.

Paciente 9:

Molar (17) com cárie incipiente de esmalte não cavitada, exibindo histologicamente manutenção da camada superficial, zona escura e zona translúcida, correspondendo clinicamente às pigmentações castanhas nas superfícies livres de esmalte. Extensa lesão de cárie cervical composta microscopicamente por dentina amolecida superficial, dentina desmineralizada acastanhada, esclerose dentinária e zona translúcida. Nas margens do preparo cavitário foram observadas áreas compostas microscopicamente por esclerose dentinária e zona translúcida. O material restaurador foi perdido durante o preparo do espécime.

Paciente 10:

Incisivo (22) com lesão de cárie cervical composta microscopicamente por dentina amolecida superficial, esclerose dentinária e zona translúcida. Notou-se dentina reacional associada à cárie cervical, com projeção para conduto pulpar. Presença de imagem branca composta por estruturas semelhantes a cristais,

compatível com material restaurador observado na porção incisal do espécime, sem evidência de cárie secundária. Material restaurador presente também na região cervical e neste caso, encontra-se associada a cárie secundária em cemento e dentina, composta por dentina amolecida superficial, esclerose dentinária acastanhada e zona translúcida.

Incisivo (32) com lesões de cárie compostas microscopicamente por esclerose dentinária e zona translúcida em dentina da região cervical e incisal. Material restaurador foi perdido durante preparo das amostras.

Pré-molar (34) com cárie de esmalte caracterizada microscopicamente por mancha enegrecida de margens mal definidas, correspondendo clinicamente à pigmentação castanha nas margens em esmalte das restaurações. Presença de imagem esbranquiçada composta por estruturas semelhantes a cristais, compatível com material restaurador na região cervical e oclusal do espécime. Nas margens oclusais é possível observar áreas de esclerose dentinária acastanhada.

Incisivo (42) com cárie de esmalte caracterizada microscopicamente por zona escura e zona translúcida, correspondendo clinicamente à pigmentação castanha, extensa lesão de cárie composta microscopicamente por esclerose dentinária, zona translúcida e tratos mortos dentinários. Imagem esbranquiçada composta por estruturas semelhantes a cristais, compatível com material restaurador na região cervical e discreta área de esclerose dentinária associada ao material restaurador.

Paciente 11:

Pré-molar (34) com extensa lesão de cárie cervical envolvendo cemento e dentina, composta microscopicamente por dentina amolecida superficial, esclerose dentinária, zona translúcida e tratos mortos dentinários. Cárie cervical incipiente de dentina não cavitada, bem delimitada e em forma semelhante a meia-lua, exibindo microscopicamente camada superficial de dentina amolecida, esclerose

dentinária e zona translúcida. Material restaurador perdido durante preparo da amostra.

5.4. Análise das regiões ou zonas da cárie de dentina, padrão de desmineralização da cárie de dentina e presença de dentina reacional por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando imagens por elétrons retro-espalhados (ERE)

Os níveis de cinza em ERE são determinados pelo nível de mineralização do tecido estudado. Elevados níveis de cinza são observados como imagens brancas que correspondem a áreas de grande concentração mineral como o esmalte e baixos níveis de cinza são observados como imagens pretas em ERE, correspondendo a áreas de baixa concentração mineral como na dentina desmineralizada (cárie). Cáries quando estudadas em ERE exibem características peculiares, são escuras quando comparadas à dentina sadia adjacente e ao esmalte e podem ser identificadas, na maioria das vezes, uma camada externa ou superficial (caracterizada por aumento da densidade mineral), camada intermediária ou profunda (caracterizada por diminuição do conteúdo mineral) e camada transparente ou esclerótica que mostra discreto aumento da densidade mineral. As bordas das lesões são bem definidas e os tons de cinza aumentam ao se afastar da cavidade e se aproximar do tecido dentinário sadio.

A análise por meio do MEV, especificamente utilizando imagens por ERE, permitiu a visualização de dentina desmineralizada caracterizada por baixa densidade mineral na forma de imagens com baixos níveis de cinza e túbulos dentinários com diâmetro aumentado. Com frequência variável entre os espécimes também foram encontradas camada superficial com densidade mineral aumentada, camada intermediária (formada principalmente por dentina desmineralizada) e camada esclerótica ou profunda (formada pela deposição de dentina intra-tubular) (Figura 14). As desmineralizações em esmalte observadas em MLP não puderam ser observadas com detalhes nesta análise por conta do

direcionamento das imagens por ERE para as cáries envolvendo dentina, realizado para orientar a aplicação da microanálise.

Foram observadas evidências de desmineralização abaixo de restaurações compatíveis com cárie secundária (Figura 15) em 03 dos 06 espécimes avaliados que possuíam restaurações que resistiram ao preparo das amostras para ERE (dos 15 espécimes que apresentaram restauração ao exame macroscópico, 06 resistiram ao preparo para ERE), cárie incisal em 08 (22,22%) espécimes avaliados (Figura 16) e imagens sugestivas de dentina reacional em 06 espécimes (16,66%) (Figuras 17 e 18).

Na análise por ERE foram observadas lesões de cáries cervicais incipientes de dentina com padrão de desmineralização apresentando formato semelhante a meia-lua (Figura 19). A análise em grande magnificação por ERE das camadas escleróticas (correspondentes à zona translúcida na MLP) exibiu deposição de dentina intra-tubular (Figura 20).

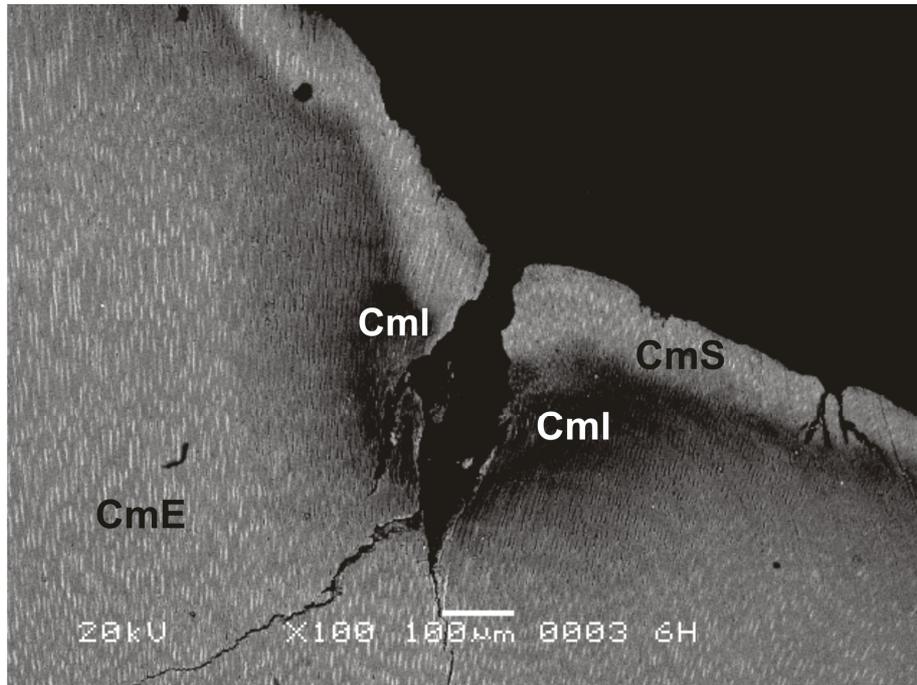


Figura 14. Imagem por elétrons retro-espalhados mostrando dentina desmineralizada por cárie com presença de camada superficial (CmS) ou externa, camada intermediária (Cml) e camada esclerótica ou profunda (CmE). A lesão de cárie mostra limites bem definidos e os níveis de cinza diminuem gradualmente à medida se afastam da camada intermediária (ERE, 100X).

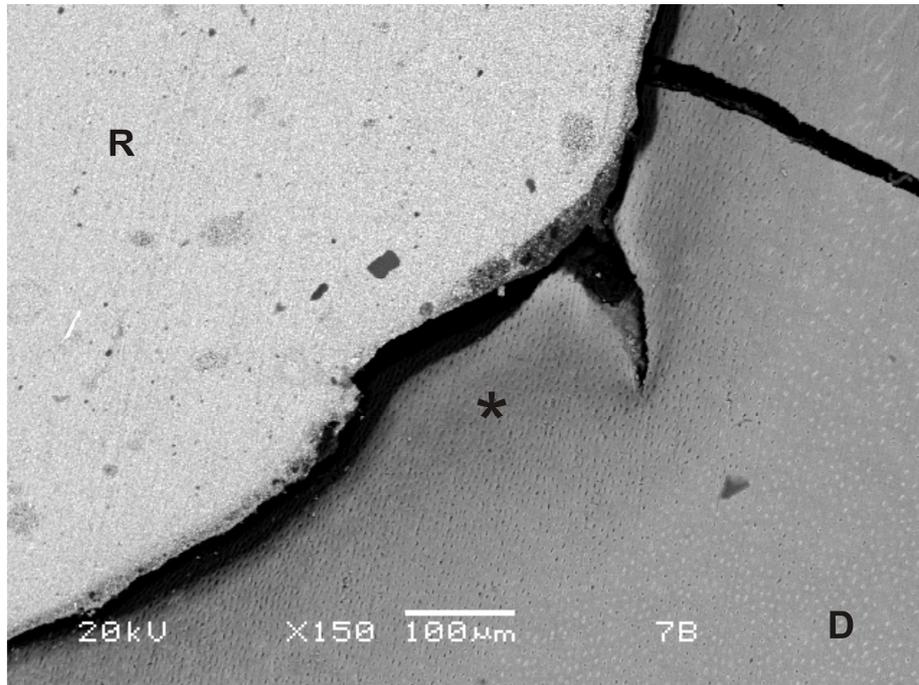


Figura 15. Imagem por elétrons retro-espalhados exibindo área com baixos tons de cinza, com densidade mineral semelhante à do esmalte e compatível com material restaurador (R). As margens do material restaurador com dentina (D) apresentam diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários (*), compatíveis com cárie secundária (ERE, 150X).

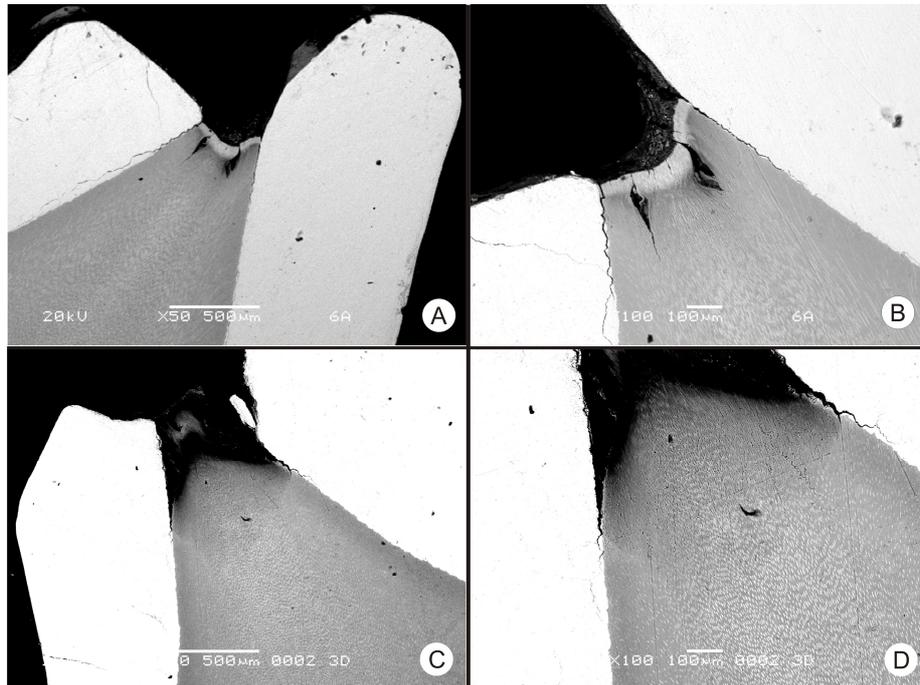


Figura 16. Imagem por elétrons retro-espalhados exibindo quatro espécimes com evidências de desmineralização superficial em dentina e diminuição da densidade mineral, compatíveis com cárie incisal (Figura 12A e 12C ERE, 50X; Figura 12B e 12D ERE, 100X).

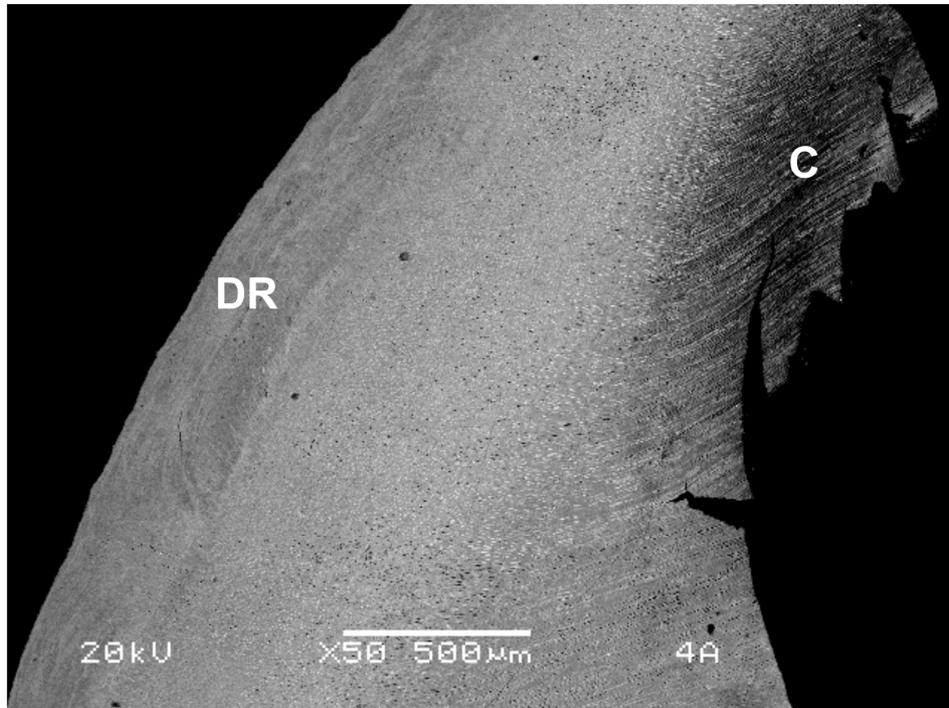


Figura 17. Imagem por elétrons retro-espalhados exibindo dentina reacional (DR) na parede interna do conduto pulpar, associada a desmineralização por cárie cervical (C). Na dentina reacional pode ser observada diminuição da quantidade de túbulos dentinários (ERE, 50X).

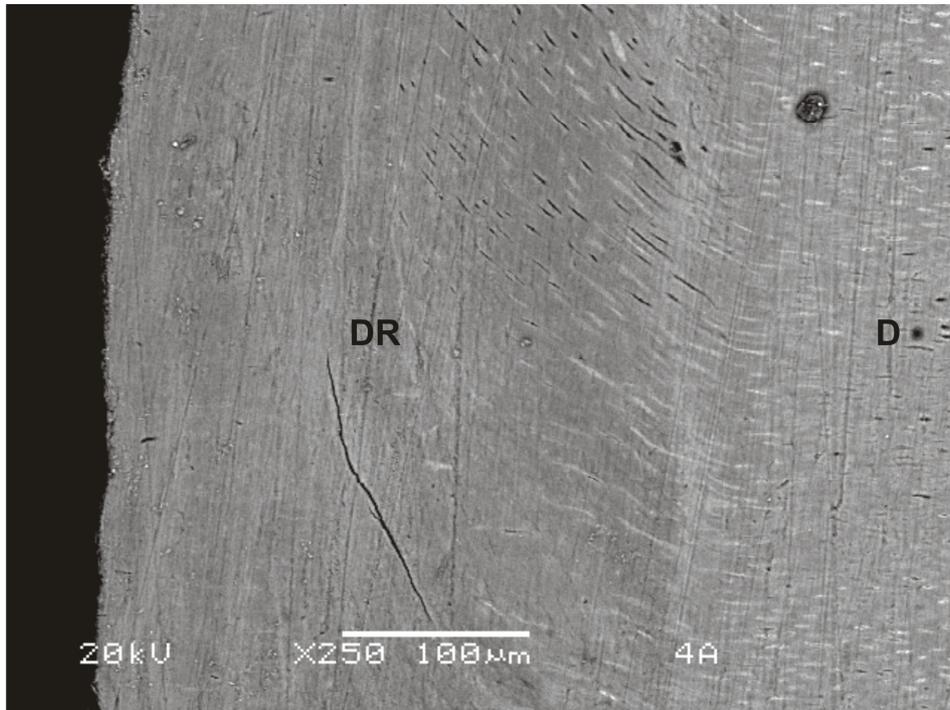


Figura 18. Imagem por elétrons retro-espalhados exibindo dentina reacional (DR) com ausência de túbulos dentinários na região mais próxima do conduto pulpar. D = Dentina (ERE, 250X).

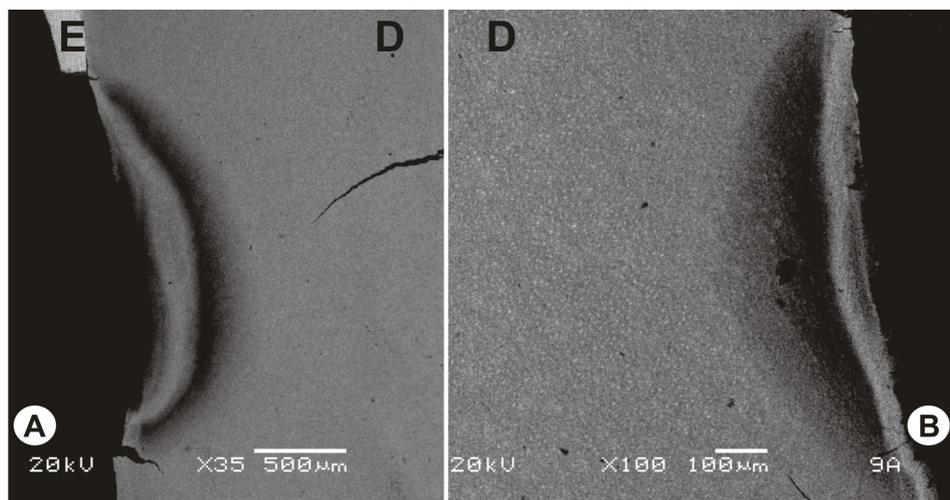


Figura 19. Imagens por elétrons retro-espalhados exibindo dois espécimes com padrão de desmineralização mostrando um formato semelhante a meia-lua em

lesões cervicais de cárie incipiente. D = dentina, E = esmalte (Figura 19A ERE, 35X; Figura 19B ERE, 100X).

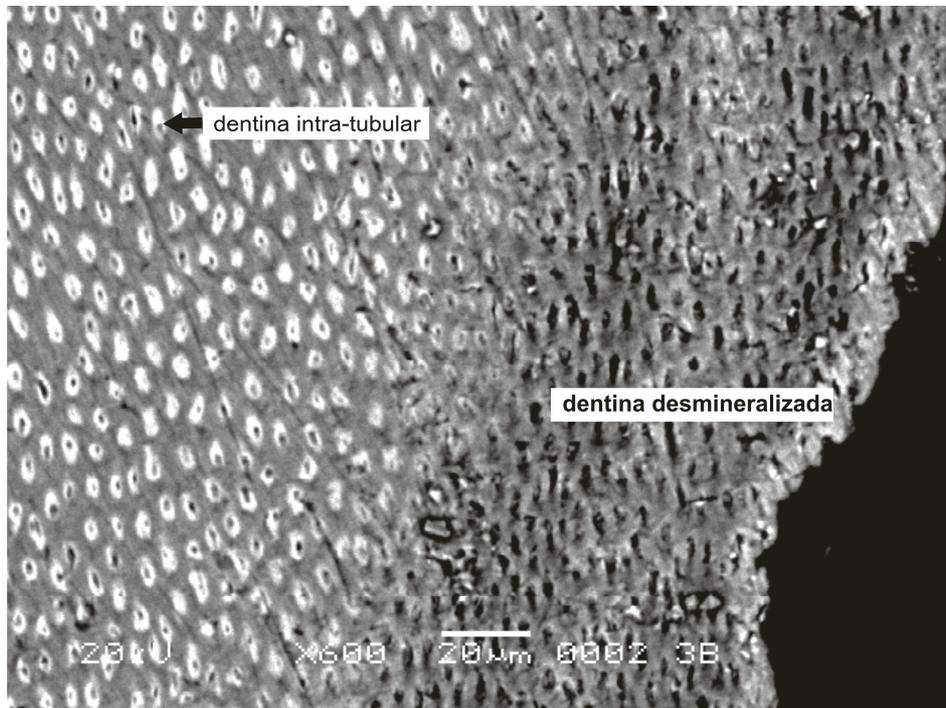


Figura 20. Imagem por elétrons retro-espalhados. Alta magnificação de área correspondente a camada esclerótica mostrando dentina intra-tubular adjacente a desmineralização dentinária por cárie (ERE, 600X).

Abaixo estão descritos individualmente o padrão de desmineralização e as características ultra-estruturais baseadas no uso de ERE da cárie de radiação no material analisado.

Paciente 1:

Molar não classificável com cárie em dentina adjacente ao esmalte cervical hígido, formato semelhante a meia-lua mostrando camada superficial e intermediária desmineralizadas, com aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e diminuição da densidade mineral (áreas com aumento dos níveis de cinza, mais

escuras, quando comparadas à dentina sadia adjacente) nas áreas de dentina desmineralizada. A lesão de cárie mostra limites bem definidos e os níveis de cinza diminuem (tornam-se mais brancos), quanto maior a profundidade, afastando-se da cavidade.

Paciente 2:

Molar (16) com cárie em dentina cervical, adjacente a esmalte hígido e com formato semelhante a meia-lua, presença de camada superficial ou externa com aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, camada intermediária com evidente diminuição da densidade mineral (aumento dos níveis de cinza, tons mais escuros) e camada esclerótica ou profunda (também conhecida como camada transparente) marcada por menores níveis de cinza, ou seja, tons mais brancos que representam aumento da densidade mineral. A lesão de cárie mostra limites bem definidos e os níveis de cinza diminuem gradualmente, quanto maior a profundidade e mais distante do fundo da cavidade por cárie, até se estabilizarem ao atingir os tons de cinza da dentina sadia. O material restaurador foi perdido durante o preparo da amostra.

Pré-molar (25) com discreta cárie em dentina da região cervical e com presença de camada superficial ou externa, camada intermediária com evidente diminuição da densidade mineral (aumento dos níveis de cinza, tons mais escuros) e camada esclerótica ou profunda marcada por discreta faixa esbranquiçada. A lesão de cárie mostra limites bem definidos e os níveis de cinza diminuem gradualmente quanto maior a profundidade e mais distante da camada intermediária, até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia. Material restaurador perdido durante preparo do espécime.

Paciente 3:

Incisivo lateral (12), durante o preparo deste espécime as áreas envolvidas por cárie foram perdidas e, por isso, não foi possível avaliá-las.

Pré-molar (14) com cárie em dentina coronária e cervical, exibindo padrão semelhante a meia-lua mostrando camada superficial parcialmente preservada e com aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e discreta camada esclerótica. A lesão de cárie mostra limites bem definidos e os níveis de cinza diminuem gradualmente quanto maior a profundidade até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia. Análise da camada esclerótica em magnificação de 600 vezes mostrou que existe diminuição generalizada do diâmetro dos túbulos dentinários nesta região em decorrência da deposição de dentina intra-tubular.

Incisivo lateral (22) com cárie acometendo porção incisal e exibindo camada superficial parcialmente preservada, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e presença de camada esclerótica, constituindo uma lesão bem delimitada, de formato cônico com base voltada para superfície e vértice para a polpa, com os níveis de cinza diminuindo gradualmente de acordo com a profundidade e se estabilizando gradualmente até atingirem os tons de cinza da dentina sadia. No corte estudado não foi observada desmineralização em esmalte.

Canino (23) com cárie incipiente em dentina provocando cavitação em esmalte. A lesão em dentina apresenta formato semelhante a meia-lua mostrando camada superficial de dentina desmineralizada, camada intermediária com aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e diminuição da densidade mineral com ausência de camada esclerótica. A lesão de cárie se mostra bem definida com níveis de cinza diminuindo progressivamente a partir da camada intermediária e ganhando tons de cinza iguais aos da dentina sadia profunda. No corte examinado não foi possível encontrar cárie incisal.

Molar não classificável com extensas lesões de cárie em dentina mostrando camada superficial parcialmente preservada, com aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, presença de camada esclerótica. A lesão de cárie mostra limites bem definidos, com arranjo cônico de vértice voltado

para polpa e base para superfície, e os níveis de cinza diminuem gradualmente quanto maior a profundidade até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente.

Paciente 4:

Canino (13) com lesão de cárie em dentina cervical apresentando camada superficial parcialmente preservada com aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e presença de discreta camada esclerótica. A lesão de cárie mostra limites bem definidos e em maior profundidade nota-se presença de dentina reacional com escassos túbulos dentinários.

Canino (23) com ausência de cárie, esmalte e dentina exibindo padrão normal.

Pré-molar não classificável (a) com lesão de cárie em dentina da região cervical mostrando discreta camada superficial com aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, presença de discreta camada esclerótica. A lesão de cárie mostra limites bem definidos com formato semelhante a meia-lua e níveis de cinza que diminuem gradualmente com distanciamento da lesão até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente. O material restaurador foi perdido durante o preparo da amostra.

Pré-molar não classificável (b) com lesão de cárie em dentina da região cervical mostrando camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e ausência de camada esclerótica. Presença de imagem com reduzidos tons de cinza (esbranquiçada), com densidade mineral semelhante à do esmalte e compatível com material restaurador, nas margens com esta restauração a dentina mostra discretas áreas de esclerose representadas pelo aumento da densidade mineral. A lesão de cárie mostra limites bem definidos com níveis de cinza diminuindo

gradualmente com o distanciamento da lesão de cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente.

Paciente 5:

Incisivo lateral (22) com cárie em dentina da região cervical mostrando camada superficial com aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, camada intermediária delgada com diminuição da densidade mineral e ausência de camada esclerótica. A lesão de cárie mostra limites bem definidos, com forma semelhante a meia-lua e níveis de cinza diminuindo gradualmente com o distanciamento da lesão de cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente. Na porção mais profunda da lesão de cárie, próximo à câmara pulpar, nota-se presença de dentina reacional irregular com escassos túbulos dentinários.

Incisivo central (41) com cárie cervical exibindo zona superficial com aumento da densidade mineral, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos canalículos dentinários e ausência de camada esclerótica. A cárie apresentou limites bem definidos com os níveis de cinza diminuindo gradualmente com o distanciamento da lesão de cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente.

Incisivo lateral (42) com cárie cervical dentinária estendendo-se para região abaixo de esmalte cervical não cariado, exibindo camada superficial e camada intermediária com diminuição da densidade mineral, ausência de camada esclerótica e limites bem definidos com os níveis de cinza diminuindo gradualmente com o distanciamento da lesão de cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente.

Paciente 6:

Incisivo lateral (12) com cárie em dentina da região incisal mostrando camada superficial com aumento da densidade mineral, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos túbulos

dentinários e ausência de camada esclerótica. Lesão de cárie também em dentina da região cervical exibindo camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos canalículos dentinários e ausência da camada esclerótica. As lesões de cárie mostram limites bem definidos com os níveis de cinza diminuindo gradualmente com o distanciamento da lesão de cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente.

Canino (13) com cárie em dentina da região incisal mostrando camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, discreta camada esclerótica. Lesão de cárie incipiente em dentina da região cervical exibindo camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos canalículos dentinários, discreta camada esclerótica, lesão com forma semelhante a meia-lua. As duas lesões de cárie se mostram bem delimitadas.

Incisivo lateral (22) com cárie incipiente em dentina, adjacente a esmalte da região cervical exibindo camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos canalículos dentinários, discreta camada esclerótica. A lesão apresentou formato semelhante a meia-lua com níveis de cinza diminuindo gradualmente com o distanciamento da lesão de cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente.

Canino (23) com cárie em dentina da região incisal mostrando camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e discreta camada esclerótica. Também apresentou lesão de cárie incipiente em dentina da região cervical com camada superficial exibindo aumento do diâmetro dos canalículos dentinários, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos canalículos dentinários, ausência de camada esclerótica. Na porção mais profunda da lesão de cárie, próximo à câmara pulpar, nota-se presença de dentina reacional associada à cárie cervical, irregular e com menor quantidade de túbulos

dentinários quando comparada à dentina normal. As lesões de cárie mostram limites bem definidos.

Pré-molar (34) com lesão de cárie incipiente em dentina da região cervical, adjacente a esmalte cervical hígido, com presença de camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos canalículos dentinários e ausência de camada esclerótica. Lesão de cárie mostra limite bem definido e níveis de cinza diminuindo gradualmente com o distanciamento da lesão de cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente. Foi observada ainda imagem compatível com cárie incisal em dentina mostrando camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, discreta camada esclerótica.

Pré-molar (35) com cárie incisal afetando dentina e caracterizada por camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e ausência de camada esclerótica. Limites bem definidos e níveis de cinza diminuindo gradualmente com o distanciamento da lesão de cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente.

Incisivo (41) com lesão de cárie incipiente em dentina da região cervical, adjacente a esmalte cervical hígido, com presença de camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos canalículos dentinários e ausência de camada esclerótica. Lesão de cárie mostra limite bem definido e níveis de cinza diminuindo gradualmente com o distanciamento da lesão de cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente.

Incisivo (42) com cárie em dentina incisal mostrando camada superficial apresentando aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e presença de camada esclerótica. Lesão de cárie bem delimitada e com níveis de cinza diminuindo gradualmente com o distanciamento da lesão de

cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente, caracterizando uma desmineralização de forma cônica com vértice voltado para polpa e base para superfície.

Pré-molar (44) com lesão de cárie em dentina da região cervical, adjacente a esmalte cervical com presença de camada superficial, mais de uma camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos canalículos dentinários, ausência de camada esclerótica. Observada também imagem compatível com cárie incisal em dentina mostrando camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, discreta camada esclerótica. Lesões de cárie mostraram limite bem definido e níveis de cinza diminuindo gradualmente com o distanciamento da lesão de cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente.

Pré-molar (45) com cárie cervical destruindo cemento e afetando dentina, adjacente a esmalte cervical e com presença de camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos canalículos dentinários, discreta camada esclerótica, formando lesão bem delimitada e de formato semelhante a meia-lua.

Paciente 7:

Canino (13) com cárie acometendo dentina coronária e exibindo camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e presença de camada esclerótica, constituindo uma lesão bem delimitada, de formato cônico com base voltada para superfície e vértice para a polpa, com os níveis de cinza diminuindo gradualmente de acordo com aumento da profundidade e se estabilizando gradualmente até atingirem os tons de cinza da dentina sadia.

Incisivo (41) com lesão de cárie em dentina da região cervical mostrando camada superficial com densidade mineral aumentada, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e

ausência de camada esclerótica. Presença de imagem com baixos tons de cinza (branca), de densidade mineral semelhante à do esmalte e compatível com material restaurador, nas margens com a restauração, a dentina mostra discretas áreas de desmineralização com menor densidade mineral e aumento do diâmetro dos canalículos dentinários. A lesão de cárie mostra limites bem definidos com níveis de cinza diminuindo gradualmente com o distanciamento da lesão de cárie até se estabilizarem e atingirem os tons de cinza da dentina sadia adjacente.

Pré-molar não classificável com lesão de cárie bilateral em dentina cervical apresentando camada superficial com aumento da densidade mineral e do diâmetro dos túbulos dentinários, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e presença de discreta camada esclerótica. A lesão de cárie mostra limites bem definidos e em maior profundidade nota-se presença de dentina reacional obliterando conduto pulpar.

Paciente 8:

Incisivo (12) com cárie acometendo dentina coronária e exibindo camada superficial, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e presença de discreta camada esclerótica, constituindo uma lesão bem delimitada com os níveis de cinza diminuindo gradualmente de acordo com aumento da profundidade e se estabilizando gradualmente até atingirem os tons de cinza da dentina sadia. O material restaurador foi perdido durante o preparo do espécime.

Incisivo (32) com cárie acometendo dentina coronária, exibindo camada superficial com densidade mineral aumentada, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, presença de camada esclerótica. Caracterizando uma lesão bem delimitada, de formato cônico com base voltada para superfície e vértice para a polpa, com os níveis de cinza diminuindo gradualmente de acordo com aumento da profundidade

e se estabilizando gradualmente até atingirem os tons de cinza da dentina sadia. O material restaurador foi perdido durante o preparo do espécime.

Paciente 9:

Molar (17) com lesão de cárie acometendo dentina coronária, exibindo extensa camada superficial com abundante aumento da densidade mineral aumentada, decorrente do aumento da deposição de dentina intra-tubular, ausência de camada intermediária e de camada esclerótica. Caracterizando uma lesão bem delimitada, de formato cônico com base voltada para superfície e vértice para a polpa. O material restaurador foi perdido durante o preparo do espécime.

Paciente 10:

Incisivo (22) com lesão de cárie cervical composta por camada superficial apresentando densidade mineral aumentada, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, ausência de camada esclerótica, formando lesão bem delimitada e semelhante a meia-lua. Presença de imagem com baixos tons de cinza (branca), de densidade mineral semelhante à do esmalte e compatível com material restaurador na dentina incisal com margens em dentina normais. Foi notada também lesão de cárie em dentina da região cervical, adjacente a material restaurador, mostrando camada superficial com densidade mineral aumentada, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários e ausência de camada esclerótica, todas as lesões se apresentaram bem delimitadas.

Incisivo (32) com cárie acometendo dentina incisal e cervical, exibindo camada superficial com densidade mineral aumentada, camada intermediária com diminuição da densidade mineral e aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, presença de discreta camada esclerótica. Caracterizando lesões bem delimitadas, com os níveis de cinza diminuindo gradualmente de acordo com aumento da

profundidade e se estabilizando gradualmente até atingirem os tons de cinza da dentina sadia. Material restaurador foi perdido durante preparo das amostras.

Pré-molar (34) com lesão de cárie composta por camada superficial apresentando densidade mineral aumentada, discreta camada intermediária com diminuição da densidade mineral e ausência de camada esclerótica, formando lesão de formato semelhante a meia-lua. Presença de imagem com baixos tons de cinza (branca), de densidade mineral semelhante à do esmalte e compatível com material restaurador na dentina cervical com margens apresentando discreta diminuição da densidade mineral, compatíveis com cárie secundária. Todas as lesões se apresentaram bem delimitadas.

Incisivo (42) com de cárie composta por camada superficial apresentando densidade mineral aumentada, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos canalículos dentinários e presença de camada esclerótica formando lesão bem delimitada semelhante a meia-lua. Presença de imagem com baixos tons de cinza (branca), de densidade mineral semelhante à do esmalte e compatível com material restaurador na dentina cervical com margens destinadas normais, não desmineralizadas.

Paciente 11:

Pré-molar (34) com extensa lesão de cárie cervical composta por camada superficial parcialmente preservada com densidade mineral aumentada, camada intermediária com diminuição da densidade mineral, aumento do diâmetro dos canalículos dentinários e presença de camada esclerótica formando lesão bem delimitada com formato semelhante a meia-lua. Em porção mais profunda da dentina, abaixo da lesão de cárie descrita, encontrou-se deposição de dentina reacional praticamente sem canalículos dentinários, com densidade mineral semelhante à dentina adjacente normal. Material restaurador perdido durante preparo da amostra.

5.5. Análise do Conteúdo mineral do esmalte, dentina sadia e dentina desmineralizada por meio da microanálise baseada na espectroscopia de dispersão de energia (EDS)

Na dentina sadia, o conteúdo de Cálcio (Ca) em porcentagem por peso variou de 67,12% a 67,99%, com média de 67,55%. O conteúdo de Fósforo (P) variou de 29,01% a 29,99%, com média de 29,56%, e a razão Ca/P na dentina variou de 2,24 a 2,33, com média de 2,28.

A dentina desmineralizada apresentou quantidade de Ca que variou de 64,02% a 64,88%, com média de 64,65%. O conteúdo de P variou de 28,05% a 28,97%, com média de 28,50%. E a razão Ca/P para a dentina desmineralizada variou de 2,21 a 2,30, com média de 2,26.

Esmalte sadio apresentou conteúdo de Ca variando de 68,02% a 68,97%, com média de 68,53. A quantidade de P variou de 29,14% a 29,92%, com média de 29,58%. A razão entre Ca/P variou de 2,28 a 2,36, com média de 2,32.

A Tabela 04 mostra os valores individuais de Ca, P e a razão entre Ca/P em dentina sadia, dentina desmineralizada e esmalte individualmente, para cada espécime estudado. A Tabela 05 mostra os valores médios da porcentagem por peso de Ca, P e a razão Ca/P em dentina sadia, dentina desmineralizada e esmalte nos 28 dentes com cárie de radiação avaliados.

Tabela 4. Valores individuais do conteúdo de Ca e P (em porcentagem por peso) e da razão Ca/P em dentina sadia, dentina desmineralizada e esmalte de 28 espécimes com cárie de radiação.

Espécime	Dentina sadia			Dentina desmineralizada			Esmalte		
	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P
1	67,7	29,11	2,33	64,42	28,08	2,29	68,97	29,66	2,33
2	67,63	29,23	2,31	64,88	28,22	2,30	68,86	29,24	2,35
3	67,78	29,88	2,27	64,86	28,73	2,26	68,09	29,9	2,28
4	67,3	29,55	2,28	64,59	28,42	2,27	68,66	29,44	2,33
5	67,36	29,87	2,26	64,28	28,05	2,29	68,86	29,45	2,34
6	67,36	29,38	2,29	64,04	28,83	2,22	68,63	29,26	2,35
7	67,65	29,91	2,26	64,73	28,76	2,25	68,64	29,2	2,35
8	67,79	29,83	2,27	64,38	28,11	2,29	68,25	29,66	2,30
9	67,86	29,57	2,29	64,18	28,45	2,26	68,77	29,67	2,32
10	67,98	29,17	2,33	64,88	28,24	2,30	68,42	29,92	2,29
11	67,12	29,92	2,24	64,75	28,84	2,25	68,47	29,92	2,29
12	67,12	29,96	2,24	64,61	28,41	2,27	68,05	29,26	2,33
13	67,17	29,05	2,31	64,56	28,37	2,28	68,37	29,9	2,29
14	67,52	29,79	2,27	64,04	28,29	2,26	68,67	29,86	2,30
15	67,96	29,55	2,30	64,42	28,17	2,29	68,97	29,57	2,33
16	67,85	29,74	2,28	64,19	28,45	2,26	68,37	29,4	2,33
17	67,22	29,93	2,25	64,2	28,94	2,22	68,62	29,6	2,32
18	67,13	29,94	2,24	64,88	28,36	2,29	68,22	29,7	2,30
19	67,13	29,75	2,26	64,64	28,22	2,29	68,35	29,89	2,29
20	67,99	29,22	2,33	64,38	28,83	2,23	68,49	29,7	2,31
21	67,68	29,99	2,26	64,47	28,88	2,23	68,52	29,65	2,31
22	67,38	29,07	2,32	64,14	28,97	2,21	68,02	29,84	2,28
23	67,6	29,45	2,30	64,28	28,33	2,27	68,32	29,26	2,33
24	67,66	29,3	2,31	64,3	28,7	2,24	68,94	29,35	2,35
25	67,28	29,7	2,27	64,6	28,39	2,28	68,52	29,48	2,32
26	67,84	29,15	2,33	64,16	28,83	2,23	68,8	29,14	2,36
27	67,47	29,52	2,29	64,02	28,97	2,21	68,91	29,49	2,34
28	67,98	29,01	2,29	64,7	28,29	2,21	68,08	29,91	2,34

Tabela 5. Valores médios para conteúdo de Ca e P (em porcentagem por peso) e razão Ca/P média em dentina sadia, dentina desmineralizada e esmalte de 28 espécimes com cárie de radiação.

	Dentina sadia	Dentina desmineralizada	Esmalte
Ca	67,55	64,45	68,53
P	29,56	28,50	29,58
Ca/P	2,28	2,26	2,32

Para análise da variância entre o conteúdo mineral dos tecidos estudados foi utilizado o teste ANOVA (dois critérios) e como foram comparados mais de dois grupos, o teste de Tukey para comparações múltiplas também foi utilizado. Nível de decisão (p) = 0,05. A diferença foi considerada significativa entre os tratamentos quando $p < 0,05$.

As comparações das médias de Ca entre dentina sadia e dentina desmineralizada, dentina sadia e esmalte e por fim dentina desmineralizada e esmalte mostraram diferença significativa. Pode-se concluir que a maior quantidade de Ca foi encontrada em esmalte, seguida pela dentina sadia, com menor quantidade de Ca encontrada na dentina desmineralizada.

As comparações das médias de P entre dentina sadia e dentina desmineralizada e dentina desmineralizada e esmalte mostraram diferença significativa, entretanto, não existiu diferença significativa entre o conteúdo de P entre dentina sadia e esmalte. Pode-se concluir que a maior quantidade de P foi encontrada em esmalte e dentina sadia, sem diferença significativa, com ambos apresentando maior quantidade de P que a dentina desmineralizada, que apresentou a menor quantidade de P dentre os três tecidos analisados.

As comparações das razões Ca/P entre dentina sadia e dentina desmineralizada, dentina sadia e esmalte e por fim dentina desmineralizada e esmalte exibiram diferença significativa. Pode-se concluir que a maior razão Ca/P foi encontrada em esmalte, seguida pela dentina. Com menor razão Ca/P em dentina desmineralizada. O resumo da análise estatística está apresentado na Tabela 06.

Tabela 06. Comparação estatística do conteúdo mineral em três diferentes tecidos de dentes afetados pela cárie de radiação. ANOVA (dois critérios).

	Dentina Sadia	Dentina Desmineralizada	Esmalte
Ca	p < 0,01		
		p < 0,01	
		p < 0,01	
P	p < 0,01		
		p < 0,01	
		ns	
Ca/P	p < 0,01		
		p < 0,01	
		p < 0,01	

ns: não significativa.

6. DISCUSSÃO

O CEC de boca acomete primariamente homens, entre a sexta e sétima década de vida e é pouco comum em pacientes com idade inferior a 45 anos. Estima-se que 90% dos pacientes acometidos por CEC consumam tabaco, álcool ou ambos e que aproximadamente 75% dos diagnósticos são realizados em estádios clínicos avançados da doença (estádios III e IV) (Carvalho *et al.*, 2004; Llewellyn *et al.*, 2004; Bsoul *et al.*, 2005; Massano *et al.*, 2006; Scully, Felix, 2006; Warnakulasuriya *et al.*, 2007).

Na população em geral o sítio anatômico bucal de maior incidência do CEC é o lábio inferior, enquanto o sítio intra-bucal de maior incidência é a língua (Onizaka *et al.*, 2003; Scully, Felix, 2006). O perfil clínico dos pacientes deste estudo, considerando o tamanho reduzido da amostra, é muito semelhante ao perfil descrito pela literatura em pacientes com CEC bucal de diferentes áreas do mundo, como acima descrito, sendo que a média de idade nesta amostra foi de 54,1 anos. Mais de 90% dos pacientes pertencia ao gênero masculino e em sua maior parte eram tabagistas (81,82%) e etilistas (54,54%); tiveram a língua (18,19%) como sítio anatômico mais afetado pelo CEC, com diagnóstico realizado predominantemente nos estádios clínicos III e IV.

A dose comum de radiação para o tratamento de carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço costuma variar entre 60 e 70Gy. A literatura específica é carente de informações a respeito da quantidade de pacientes que são submetidos a avaliação e ao tratamento odontológico antecedendo a radioterapia em cabeça e pescoço, assim como fornece pouca informação a respeito da incidência da cárie de radiação, do tempo médio que ela pode levar para destruir os dentes afetados e da presença de dor nos dentes com cárie de radiação. Mucosite é a complicação mais comum da radioterapia em cabeça e pescoço, seguida por hipossalivação, cárie de radiação e em menor frequência osteorradionecrose que se desenvolve em aproximadamente 5% dos casos (Kielbassa *et al.*, 2006; Wahl, 2006).

Os pacientes que cederam dentes para o estudo receberam quantidade de radiação que variou de 50 a 70,4 Gy. Aproximadamente metade (54,54%) dos pacientes recebeu tratamento odontológico antes da radioterapia e o tempo de extração dental variou de 12 a 120 meses após a conclusão da radioterapia. Seis (54,54%) pacientes não relataram dor associada aos dentes extraídos, mesmo nos dentes com extensas lesões por cárie.

Diferentes complicações bucais da radioterapia se apresentaram em mais da metade dos pacientes, prevalecendo a osteorradionecrose, saliva espessa, disgeusia e xerostomia que se manifestaram em 27,27% dos casos e mucosite em 18,19% dos pacientes. Alguns dos pacientes não foram tratados integralmente no Hospital do Câncer AC Camargo e procuraram atendimento especificamente para tratamento de complicações bucais da radioterapia, na maioria das vezes osteorradionecrose, fato que explica a elevada prevalência desta complicação nos pacientes que cederam dentes para este trabalho.

O padrão de efeitos colaterais bucais associados à radioterapia nestes pacientes está de acordo com relatos prévios de diversos autores (Jansma *et al.*, 1992; Lopes *et al.*, 1998; Bonan *et al.*, 2003; Vissink *et al.*, 2003; Bonan *et al.*, 2006; Kielbassa *et al.*, 2006).

A despeito da já bem consolidada importância da avaliação e do tratamento odontológico antecedendo o início do tratamento radioterápico (Koga *et al.*, 2008), a literatura mostra carência de trabalhos que analisem a eficácia deste que parece ser o mais eficiente método de prevenção da cárie de radiação, assim como são poucos os dados concretos que mostram a incidência das principais complicações bucais em pacientes irradiados em cabeça e pescoço. Esta carência torna evidências clínicas importantes deste grupo de pacientes, como a ausência de dor dental em aproximadamente metade dos pacientes com cárie de radiação, mesmo em pacientes com extensas lesões de cárie, difíceis de serem discutidas (Bonan *et al.*, 2003; Bonan *et al.*, 2006; Kielbassa *et al.*, 2006; Jham *et al.*, 2007).

Dois recentes estudos com pacientes brasileiros avaliados clinicamente antes do início da radioterapia e acompanhados durante e depois da radioterapia

em cabeça e pescoço mostram uma incidência aproximada de 11% para a cárie de radiação (Bonan *et al.*, 2006; Jham *et al.*, 2007). Evidências científicas sugerem que o risco para o desenvolvimento da cárie de radiação estará presente por toda a vida dos pacientes após a radioterapia e com base neste risco permanente, a incidência da cárie de radiação encontrada nos estudos acima citados, pode ter sido subestimada, já que o tempo de acompanhando destes pacientes foi curto (Kielbassa *et al.*, 2006). Os pacientes estudados nesta dissertação tiveram as exodontias realizadas em um tempo que variou de 12 a 120 meses após a conclusão da radioterapia e esta grande variação de tempo pode ser um indício que reforça a existência do risco permanente para a cárie de radiação.

Clinicamente, a cárie de radiação costuma ter início na superfície vestibular da região cervical dos dentes anteriores, progredindo a partir das superfícies lisas dos dentes anteriores de mandíbula e podendo acometer todos os dentes remanescentes. As lesões progridem circundando as regiões cervicais dos dentes, indicando uma pré-disposição especial desta região para a cárie. A seguir, alterações na translucidez e cor (pigmentação castanha de toda coroa dos dentes) ocasionam aumento da friabilidade (acompanhada pelo desgaste da superfície incisal dos dentes anteriores e das cúspides dos posteriores) que pode terminar com amputação da coroa (Kielbassa *et al.*, 2006). Aproximadamente 60% dos dentes acometidos pela cárie de radiação nos pacientes aqui descritos estavam localizados na região anterior de maxila e mandíbula. Mais de 80% dos dentes analisados possuíam pigmentação castanha em faces livres de esmalte ou terço cervical. Cárie cervical foi observada em 77,77% dos espécimes e cárie acometendo a região incisal em 30,55% dos casos. Apesar da maioria dos espécimes que apresentaram cárie ao exame macroscópico terem apresentado imagem na radiografia periapical compatível com cárie, apenas em 8,33% dos espécimes radiografados, imagens sugestivas de dentina reacional foram detectadas.

Jongebloed *et al.*, (1988) e Jansma *et al.*, (1993), utilizando uma abordagem semelhante à desta dissertação, estudaram a superfície de dentes

afetados por cárie radiação que foram extraídos de pacientes irradiados, por meio da microscopia eletrônica de varredura, utilizando imagens por elétrons secundários. A principal diferença, além do uso de elétrons secundários, foi que os autores se limitaram a avaliar a superfície externa das lesões de cárie, sem o preparo de espécimes ou cortes finos a partir do dente cariado que possibilitasse a visualização do padrão de progressão e desmineralização das cáries (modelo de estudo ainda não publicado para cáries de radiação). Deste modo, concluíram que a cárie de radiação mostrou os mesmos padrões morfológicos de cárie que os encontrados em cáries convencionais, com aumento da porosidade do esmalte e formação de crateras com exposição do esmalte e da dentina sub-superficial. Concluíram, por fim, que a única diferença morfológica, quando comparada com a cárie convencional, seria a predileção da cárie de radiação para as superfícies dentais que normalmente não são afetadas, como superfície lisa de esmalte e região cervical de dentes anteriores.

Os poucos estudos microscópicos e ultra-estruturais que tiveram como objetivo estudar as características morfológicas da cárie de radiação não responderam todos os numerosos questionamentos a respeito de sua patogênese e progressão, assim, experimentos adicionais podem ser importantes para aperfeiçoar a compreensão do modo pelo qual a cárie de radiação se desenvolve e progride clinicamente, resultados potencialmente importantes para o desenvolvimento de materiais restauradores que apresentem maior longevidade nos dentes irradiados (Frank *et al.*, 1965; Karmioli, Walsh, 1975; Anneroth *et al.*, 1985; Jongebloed *et al.*, 1988; Jansma *et al.*, 1993).

As propriedades fundamentais da dentina humana, conservadas durante a evolução da espécie, incluem sensibilidade, crescimento contínuo, habilidade reparadora e hipermineralização em resposta a estímulos externos (Arnold *et al.*, 2003). O complexo dentino-pulpar de dentes sadios reage às agressões por cárie utilizando três mecanismos principais, submetendo seus canalículos à esclerose, formando dentina reacional e induzindo inflamação pulpar (Consolaro, 1996; Arnold *et al.*, 2003). Estes mecanismos são induzidos pela dissolução da matriz

orgânica dentinária pela cárie, que libera fatores de crescimento para odontoblastos, estimulando-os à produção acelerada de dentina intra-tubular para estabelecimento da esclerose dentinária, bem como produção acelerada de dentina reacional (também conhecida como dentina terciária, reparatória, de irritação ou secundária patológica), fenômenos reacionais que visam retardar a progressão da cárie (Darling, 1956; Darling, 1958, Consolaro, 1996; Arnold *et al.*, 2003). Dentro das possibilidades deste estudo, as duas reações dentinárias que tentam diminuir a progressão da cárie, esclerose dentinária por meio da deposição de dentina intra-tubular e dentina reacional, foram encontradas tanto na análise por MLP quanto em ERE, resultados que parecem ainda não terem sido descritos em outros estudos da cárie de radiação.

Canalículos dentinários superficiais, abaixo da dentina desmineralizada, se apresentam fechados e acastanhados nos cortes por desgaste avaliados por MLP, caracterizando a esclerose dentinária. Outra região da cárie que é caracterizada pela esclerose dentinária, mas que apresenta translucidez quando avaliada pela MLP é a zona translúcida. Recentes estudos conseguiram mostrar a deposição de dentina intra-tubular por MEV em zona translúcida de cáries convencionais (Arnold *et al.*, 2001; Arnold *et al.*, 2003; Arnold *et al.*, 2007). A esclerose dentinária é baseada na obliteração dos canalículos dentinários por deposição de dentina intra-tubular, encontrada também neste estudo durante análise em grande magnificação por ERE das zonas translúcidas da cárie de radiação, informação que parece não estar disponível em estudos prévios.

Os canalículos dentinários mais escuros encontrados em análises de espécimes por desgaste, provavelmente estão vazios e correspondem a uma retração súbita e prévia ou à destruição dos prolongamentos odontoblásticos, e, resposta à progressão da cárie convencional, sendo chamados de tratos mortos da dentina (Consolaro, 1996; Arnold *et al.*, 2003). Outro achado não encontrado na literatura especializada, mas descrito nos resultados desta dissertação é a presença de tratos mortos dentinários nos espécimes com cárie de radiação.

A dentina reacional tem estrutura organizada de acordo com seu ritmo de formação. De modo geral, possui número menor de canalículos (atubular), distribuídos irregularmente, com diâmetro e comprimento irregulares. Assim como menor conteúdo mineral, justificando porque nem sempre ela pode ser visualizada radiograficamente (Consolaro, 1996). Reforçando esta informação, nove (25%) dos 36 dentes analisados apresentaram imagens histológicas ou ultra-estruturais sugestivas de dentina reacional, enquanto apenas três (8,33%) radiografias periapicais mostraram imagem sugestiva de dentina reacional. Resultados como estes, reforçam a hipótese de que a dentina dos dentes irradiados preserva a capacidade de reação contra estímulos agressores externos e também parecem não ter sido descritos anteriormente, além disso, estas evidências vão de encontro a recentes estudos que sugerem que esta reação estaria prejudicada por conta da radiação (Açil *et al.*, 2005; Springer *et al.*, 2005).

Considerando que a vitalidade odontoblástica é essencial para a ocorrência da esclerose dentinária e da deposição de dentina reacional, a presença de dentina intra-tubular e de dentina reacional nesta amostra torna pouco provável a teoria de que a ação direta da radiação na polpa seria suficiente para comprometer o metabolismo odontoblástico e impossibilitar a reação dentinária contra a progressão de cárie. Contrariando também a idéia que a ausência destes mecanismos de reação dentinária contra a cárie justificaria a rápida progressão da cárie de radiação (Grötz *et al.*, 1998; Al-Nawas *et al.*, 2000; Açil *et al.*, 2005; Springer *et al.*, 2005).

A explicação para a ausência de dentina reacional em 75% dos espécimes, de esclerose dentária, zona translúcida, e tratos mortos dentinários em alguns espécimes estudados, ou mesma a presença variável destes de acordo com o método utilizado (alguns espécimes que apresentaram zona translúcida em MLP não exibiram imagem correspondente em ERE), pode ser justificada pela já descrita ausência destas reações em cáries agudas, devido à rapidez da destruição dos tecidos dentários duros, como acontece na cárie de radiação ou

ainda pela diferença existente entre os próprios cortes do mesmo espécime (Darling, 1956; Darling, 1958).

Embora não possam ser identificados individualmente em um mesmo corte microscópico de dentina em decorrência das várias técnicas de preparo dos espécimes, a cárie dentinária pode ser dividida morfológicamente (principalmente nos dentes preparados por desmineralização e desgaste), no sentido da polpa para superfície, em cinco regiões: zona de esclerose dentinária, zona de desmineralização inicial ou profunda, zona de invasão bacteriana, zona de desmineralização avançada ou superficial e zona de destruição e desorganização total (Consolaro, 1996). As zonas de progressão da cárie dentinária variam de acordo com a técnica utilizada para avaliá-la e quando aplicado desgaste para análises por MLP, podem ser observadas áreas de dentina amolecida na superfície da cavidade por cárie, dentina desmineralizada (costuma apresentar cor preta ou acastanhada), esclerose dentinária (que costuma apresentar cor castanha), zona translúcida, tratos mortos dentinários e dentina secundária (Arnold *et al.*, 2003).

Já no estudo por MEV, as cáries costumam apresentar três camadas com diferentes estruturas, propriedades mecânicas e conteúdo mineral: camada externa ou superficial, intermediária ou profunda e transparente ou esclerótica (Fusayama *et al.*, 1966; Johnson *et al.*, 1969; Fusayama, Kurosaki, 1972; Silverstone, Hicks, 1985; Fusayama, 1991).

A primeira etapa na cárie é a ocorrência da desmineralização superficial do esmalte, com aumento da porosidade em diversas áreas de esmalte. Este fenômeno é seguido pela formação de cratera com exposição de esmalte sub-superficial, dissolução dos prismas, perda de grandes superfícies de esmalte e exposição dentinária (Jansma *et al.*, 1993). Na análise por MLP deste estudo foram observados com frequência áreas de desmineralização em esmalte, caracterizadas por manchas de cor castanha ou enegrecida, que correspondiam clinicamente a pigmentação castanha na superfície lisa do esmalte de dentes anteriores descrita em mais de 80% dos espécimes. Estas imagens da MLP

sustentam a hipótese ainda não observada em publicações científicas que as áreas também descritas na literatura como pigmentações castanhas na superfície do esmalte de dentes em pacientes irradiados deveriam ser diagnosticadas e tratadas como desmineralizações superficiais compatíveis com cárie (Vissink *et al.*, 2003a; Kielbassa *et al.*, 2006). Muitas das pigmentações castanhas cervicais descritas macroscopicamente foram diagnosticadas como cáries incipientes em dentina por meio da MLP e da ERE, mesmo com a variação da presença destas desmineralizações quando avaliado por MLP e ERE, fato este devido às diferenças entre dois cortes diferentes do mesmo espécime utilizados para cada análise.

As imagens de MLP e ERE apresentaram uma boa correlação neste estudo, com áreas escuras de dentina desmineralizada na MLP visualizadas como áreas pretas ou escuras por ERE, assim como as áreas castanhas de esclerose dentinária na MLP puderam ser vistas como camada superficial com aumento da densidade mineral (brancas) com ERE. Em geral, as lesões de dentina em MLP mostraram dentina desmineralizada, esclerose dentinária e zona translúcida, com um padrão de desmineralização para as lesões incipientes mostrando um formato semelhante a meia-lua, já descrito em cáries incipientes convencionais e em lesões de cárie induzidas experimentalmente. As lesões avançadas em dentina foram visualizadas em ERE como áreas escuras (que refletem a perda mineral) na região cervical, na dentina coronária e na região incisal, quase sempre com um padrão de desmineralização lembrando um cone de base voltada para a superfície e vértice para a polpa, o mesmo padrão notado em cáries convencionais de dentina. As zonas e áreas da cárie de dentina no material avaliado mostraram morfologia, quando avaliadas tanto por MLP quanto por ERE, muito semelhante à morfologia da cárie convencional, bem documentada na literatura (Darling, 1956; Darling, 1958; Fusayama *et al.*, 1966; Johnson *et al.*, 1969; Fusayama, Kurosaki, 1972; Silverstone, Hicks, 1985; Fusayama, 1991; Hietala *et al.*, 1993; Consolaro, 1996; Tjaderhane *et al.*, 1995; Arnold *et al.*, 2007).

Evidências de desmineralização encontradas abaixo de restaurações em MLP e ERE, compatíveis com cárie secundária, foram observadas em 10 dos 15 espécimes avaliados cujas restaurações resistiram ao preparo das amostras (dentre os 15 espécimes que apresentaram restauração ao exame macroscópico, 09 resistiram ao preparo para MLP e 06 para ERE) e podem ser informações importantes para a discussão de um assunto relevante e pouco estudado, que é a menor longevidade e a elevada freqüência de deterioração com falha recorrente das restaurações em dentes de pacientes irradiados (Hu *et al.*, 2002; Mc Comb *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2005). De modo divergente às evidências de cáries secundárias abaixo das restaurações aqui descritas, os estudos que analisaram o comportamento e o tempo de duração de diversos materiais dentários restauradores em dentes de pacientes irradiados sugerem que a razão mais comum para as falhas destas restaurações seria o deslocamento do material sem evidências clínicas de cáries secundárias nas margens das restaurações que se desprenderam. Alguns autores conjecturaram a partir daí que o embricamento mecânico entre o preparo cavitário e o material restaurador poderia estar prejudicado em dentes de pacientes irradiados (Hu *et al.*, 2002; Mc Comb *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2005).

A presença de desgaste e cárie incisal durante a avaliação macroscópica dos dentes deste estudo foi descrita em onze espécimes e confirmada em dez dos espécimes estudados por MLP e ERE, que apresentaram evidências de desmineralização incisal. Este é um resultado importante já que a literatura não possui trabalhos específicos a respeito da etiologia, incidência, características clínicas ou tratamento para este tipo específico de cárie que costuma acometer pacientes irradiados. Na verdade, são poucos os estudos que citam a cárie incisal ou a consideram como característica importante e freqüente nos pacientes irradiados e este parece ser o primeiro trabalho a exibir as características histológicas e ultra-estruturais da cárie incisal em pacientes irradiados (Jongbloed *et al.*, 1988; Joyston-Bechal, 1992; Jansma *et al.*, 1993; Kielbassa *et*

al., 1999; Kielbassa *et al.*, 2000; Gernhardt *et al.*, 2001; Vissink *et al.*, 2003a; Kielbassa *et al.*, 2006).

A visualização de diferenças no conteúdo mineral da dentina foi feita por meio de ERE, que foram utilizadas para selecionar as áreas de dentina sadia, dentina desmineralizada e esmalte sadio para posterior avaliação pela microanálise (EDS).

Com base nas alterações no componente mineral observadas por MLP e ERE, este estudo investigou a natureza da desmineralização e o conteúdo de Ca e P em dentina sadia, dentina desmineralizada e esmalte sadio por meio da microanálise baseada na EDS, permitindo a quantificação do conteúdo mineral da cárie de radiação presente nos espécimes avaliados nesta dissertação.

Foi encontrada menor quantidade de Ca e P na dentina desmineralizada quando comparada à quantidade de Ca e P na dentina sadia. Esmalte apresentou o maior conteúdo mineral dentre os três tecidos estudados, resultados que estão de acordo com Tjaderhane *et al.*, (1995), Hals *et al.*, 1998; Arnold *et al.*, (2001), Arnold *et al.*, (2003), Angker *et al.*, (2004); Arnold *et al.*, (2007). Assim, a redução dos elementos minerais na dentina cariada confirmou resultados prévios da análise por ERE.

A razão Ca/P foi menor na dentina desmineralizada quando comparada à dentina sadia, como encontrado por Arnold *et al.*, (2001), e o esmalte apresentou maior razão Ca/P quando comparado à dentina sadia. Arnold, Gaengler, (2007), num dos únicos estudos publicados que compara a razão Ca/P entre esmalte e dentina sadia, encontraram o mesmo valor para a razão Ca/P (2,1) em esmalte e dentina madura de dentes humanos permanentes, apesar do maior conteúdo mineral do esmalte.

Encontramos quantidade de Ca e de P nos três tecidos avaliados maiores que o conteúdo de Ca e P encontrado na maioria dos estudos que utilizaram métodos semelhantes. Entretanto, os valores da razão Ca/P encontrados nos três tecidos avaliados neste estudo (considerada como principal parâmetro para este tipo de análise por representar a composição mineral do tecido avaliado) se

mostrou semelhante à maioria dos estudos que avaliam cárie convencional por MLP, ERE e EDS e dentro da variação de 1,7 a 2,4 esperada para dentina humana (Arnold *et al.*, 2003). Por este motivo, acreditamos que as maiores quantidades de Ca e P encontradas aqui não sejam características importantes e peculiares da cárie de radiação, mas, sim, alterações no conteúdo mineral inerentes ao método e à regulação do equipamento utilizado, já que resultados semelhantes foram observados nos trabalhos de Angker *et al.*, 2004 e Mahoney *et al.*, 2004, que encontraram conteúdo mineral maior e valores de Ca e P em esmalte elevados e próximos aos aqui descritos. Diferente de alguns trabalhos que utilizaram hidroxiapatita pura como controle para a quantificação de Ca e P, este trabalho utilizou a razão Ca/P da dentina e do esmalte sadio como controle, amparado em estudos publicados por Tjaderhane *et al.*, (1995) e por Frank *et al.*, (1996), que usaram dentina sadia circumpulpar como controle para a quantidade de Ca e P.

Alguns trabalhos publicados irradiaram esmalte *in vitro* e *in situ* e encontraram solubilidade aumentada e resistência mecânica diminuída em esmalte irradiado (Jansma *et al.*, 1988; Shaw *et al.*, 2000). Considerando que as propriedades mecânicas e conseqüentemente a solubilidade do esmalte são dependentes de seu conteúdo mineral, os resultados da microanálise aqui descritos não estão de acordo com tal diminuição das propriedades mecânicas do esmalte irradiado, já que a razão Ca/P descrita no esmalte desta amostra encontra-se dentro dos valores para esmalte sadio não irradiado encontrado por Angker *et al.*, (2004), Mahoney *et al.*, (2004) e Arnold, Gaengler, (2007).

A proximidade dos valores para a razão Ca/P encontrada entre dentina sadia, dentina desmineralizada e esmalte sadio nos dentes irradiados é encontrada em todos os trabalhos que usam métodos semelhantes, a despeito das variações no conteúdo de Ca e P nos diferentes tecidos estudados (Tjaderhane *et al.*, 1995; Arnold *et al.*, 2001, Arnold *et al.*, 2003, Angker *et al.*, 2004; Arnold *et al.*, 2007; Arnold, Gaengler, 2007).

A cavidade bucal é um ambiente complexo, onde a composição salivar e a microbiota exercem um papel muito importante nos processos de desmineralização e remineralização da superfície dentária. Nesse sentido, o desenvolvimento da cárie de radiação é de origem multifatorial, dependendo da composição salivar, da colonização bacteriana, da dieta do paciente, da higiene dental, da biodisponibilidade de flúor, da qualidade das restaurações e do efeito direto da radiação sobre os dentes. Mais estudos experimentais e clínicos são necessários para o desenvolvimento de regimes preventivos e terapêuticos mais eficientes para cáries de radiação e para compreensão da complexa interação entre cárie de radiação, ambiente bucal e efeitos diretos da radiação sobre os dentes.

A despeito dos resultados aqui descritos, sugerindo que a cárie de radiação progride histologicamente da mesma maneira que a cárie convencional, e as evidências encontradas nesta amostra que sugerem que a dentina irradiada preserva suas funções vitais frente aos processos cariosos, persistem sem respostas, importantes questões como: 1. O motivo pelo qual a cárie de radiação progride clinicamente tão rápido; 2. A justificativa para a cárie de radiação possuir afinidade por áreas dentais consideradas imunes em pacientes não irradiados; 3. A aparente diminuição aos estímulos de dor em grande parte dos dentes afetados por este tipo de cárie e 4. A origem da falha precoce e recorrente de materiais restauradores nos dentes com cárie de radiação.

7. CONCLUSÕES

1. A cárie de radiação apresentou morfologia semelhante à descrita para cáries convencionais, com mesmo perfil histológico e ultra-estrutural;

2. O padrão de desmineralização das lesões de cárie de radiação foi o mesmo que os descritos na literatura para lesões convencionais, com diminuição do conteúdo de Ca e P na dentina desmineralizada e razão Ca/P dentro dos valores esperados para dentina desmineralizada, dentina sadia e esmalte sadio;

3. A dentina dos dentes irradiados preserva a habilidade reparadora em resposta à progressão da cárie, com presença de dentina reacional e deposição de dentina intra-tubular;

4. As pigmentações castanhas das superfícies lisas de esmalte que acometem pacientes irradiados representam cáries incipientes em esmalte não cavitado;

5. Uma importante parcela dos dentes desta amostra apresentou cárie incisal, localização anatômica pouco explorada pela literatura como importante para o desenvolvimento da cárie de radiação;

6. As características morfológicas da cárie de radiação encontradas nesta amostra não justificam a afinidade destas lesões por áreas como região cervical e incisal dos dentes dos pacientes estudados, tampouco a rápida progressão deste tipo de cárie, a ausência de dor nos dentes dos pacientes afetados e a reduzida longevidade de materiais restauradores em dentes irradiados.

8. REFERÊNCIAS*

01. Açil Y, Mobasser AE, Warnke PH, Terheyden H, Wiltfang J, Springer J. Detection of Mature Collagen in Human Dental Enamel. *Calcif Tissue Int.* 2005; 76(2): 121-6.
02. Al-Nawas B, Grotz KA. Prospective study of the long term change of the oral flora after radiation therapy. *Support Care Cancer.* 2006; 14(3): 291-6.
03. Al-Nawas B, Grotz KA, Rose E, Duschner H, Kann P, Wagner W. Using ultrasound transmission velocity to analyse the mechanical properties of teeth after in vitro, in situ, and in vivo irradiation. *Clin Oral Invest.* 2000; 4(3): 168-72.
04. Andrews N, Griffiths C. Dental complications of head and neck radiotherapy: Part 2. *Aust Dent J.* 2001; 46(3): 174-82.
05. Anneroth G, Holm LE, Karlsson G. The effect of radiation on teeth. A clinical, histologic and microradiographic study. *Int J Oral Surg.* 1985; 14(3): 269-74.
06. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Correlating the mechanical properties to the mineral content of carious dentine - a comparative study using an ultra-micro indentation system (UMIS) and SEM-BSE signals. *Arch Oral Biol.* 2004; 49(5): 369-78
07. Arends J, ten Bosh JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res.* 1992; 71(spec Issue): 924-928.
08. Arnold WH, Konopka S, Gaengler P. Qualitative and quantitative assessment of intratubular dentin formation in human natural carious lesions. *Calcif Tissue Int.* 2001; 69(5): 268-73.
09. Arnold WH, Gaengler P. Quantitative analysis of the calcium and phosphorus content of developing and permanent human teeth. *Ann Anat.* 2007; 189(2): 183-90.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseada na norma do Internacional Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

10. Arnold WH, Konopka S, Kriwalsky MS, Gaengler P. Morphological analysis and chemical content of natural dentin carious lesion zones. *Ann Anat.* 2003; 185(5): 419-24.
11. Arnold WH, Sonkol T, Zoellner A, Gaengler P. Comparative study of in vitro caries-like lesions and natural caries lesions at crown margins. *J Prosthodont.* 2007; 16(6): 445-51.
12. Berger, Sandrine Bittencourt. Efeitos de agentes clareadores de alta concentração para tratamento em consultório na microdureza, morfologia e composição química do esmalte humano [dissertação]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2007.
13. Bonan PRF, Pires FR, Lopes MA, Di Hipólito Jr O. Evaluation of salivary flow in patients during head and neck radiotherapy. *Pesqui Odontol Bras.* 2003; 17(2): 156-60.
14. Bonan PRF, Lopes MA, Pires FR, Almeida OP. Dental management of low socioeconomic level patients before radiotherapy of the head and neck with special emphasis on the prevention of osteoradionecrosis. *Braz Dent J.* 2006; 17(4): 336-342.
15. Boyde A, Jones SJ. Backscattered electron imaging of dental tissues. *Anat Embryol (Berl).* 1983; 168(2): 211-26.
16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. Estimativa 2008: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2007.
17. Bsoul SA, Huber MA, Terezhalmly GT. Squamous Cell Carcinoma of the Oral Tissues: A Comprehensive Review for Oral Healthcare Providers. *J Contemp Dent Pract.* 2005; 15; 6(4): 1-16.
18. Carvalho AL, Singh B, Spiro RH, Kowalski LP, Shah JP. Cancer of the oral cavity: a comparison between institutions in a developing and a developed nation. *Head Neck.* 2004; 26(1): 31-8.

19. Consolaro A. Cárie dentária: histopatologia e correlações clínico-radiográficas. Bauru-SP: Consolaro Editora; 1996.
20. Darlin AI. Studies of the early enamel caries with transmitted light, polarised light and radiography. *Brit Dent J.* 1956; 101(9): 289-97.
21. Darlin AI. Studies of the early enamel. Its nature, mode of spread, and points of entry. *Brit Dent J.* 1958; 105(4): 289-97
22. Del Regato JA. Dental lesions observed after Roentgen therapy in cancer of the buccal cavity, pharynx and larynx. *Am J Roentgenol* 1939; 42: 404–10.
23. Frank RM, Herdly J, Philippe E. Acquired dental defects and salivary gland lesions after irradiation for carcinoma. *J Am Dent Assoc.* 1965; 70: 868-83.
24. Frank RM, Capitant M, Goni J. Electron probe studies of human enamel. *J Dent Res.* 1996; 45(Suppl): 672-682.
25. Fusayama T, Okuse K, Hosada H. Relationship between hardness, discoloration and microbial invansion in carious dentine. *J Dent Res.* 1966; 45(1): 1033-46.
26. Fusayama T, Kurosaki N. Structure and removal of carious dentine. *Int Dent J.* 1972; 22(3): 401-11.
27. Fusayama T. Intratubular crystal deposition and remineralization of carious dentin. *J Biol Buccale.* 1991; 19(3): 255-62.
28. Gernhardt CR, Kielbassa AM, Hahn P, Schaller HG. Tensile bond strengths of four different dentin adhesives on irradiated and non-irradiated human dentin in vitro. *J Oral Rehabil.* 2001; 28(9): 814-20.
29. Gernhardt CR, Koravu T, Gerlack R, Schaller HG. The influence of dentin adhesives on the demineralization of irradiated and non-irradiated human root dentin. *Oper Dent.* 2004; 29(4): 454-461.
30. GOLDSTEIN, J. *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis: a Text for Biologists, Materials Scientists, and Geologists.* 2nd. Edition, New York. Plenum Press; 1991.

31. Grötz KA, Duschner H, Kutzner J, Thelen M, Wagner W. Histotomography studies of direct radiogenic dental enamel changes. *Mund Kiefer Gesichtschir.* 1998; 2(2): 85-90.
32. Hals E, Tveit AB, Totdal B. X-ray microanalysis of dentin: a review. *Scanning Microsc.* 1998; 2(1): 357-369.
33. Hietala EL, Tjaderhane L, Larmas M. Dentin Caries Recording with Schiff's Reagent, Fluorescence, and Back-scattered Electron Image. *J Dent Res.* 1993; 72(12): 1588-1592.
34. Hu JY, Li Q, Smales RJ, Yip KH. Restoration of teeth with more-viscous glass ionomer cements following radiation-induced caries. *Int Dent J.* 2002; 52(6): 445-8.
35. Hu JY, Chen XC, Li YQ, Smales RJ, Yip KH. Radiation-induced root surface caries restored with glass ionomer cement placed in conventional and ART cavity preparations: Results at two years. *Aust Dent J.* 2005; 50(3): 186-190.
36. Huber MA, Terezhalmay GT. The head and neck radiation oncology patient. *Quintessence Int.* 2003; 34(9): 693-717.
37. Jansma J, Buskes JAKM, Vissink A, Mehta DM, Gravenmade EJ. The effect of X-ray irradiation on demineralization of bovine enamel. A constant composition study. *Caries Res.* 1988; 22(4): 199-203.
38. Jansma J, Vissink A, Spijkervet FKL, Roodenburg JLN, Panders AK, Vermey A, *et al.* Protocol for the prevention and treatment of oral sequelae resulting from head and neck radiation therapy. *Cancer.* 1992; 15; 70(8): 2171-80.
39. 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.
40. Jham BC, Reis PM, Miranda EL, Lopes RC, Carvalho AL, Scheper MA, Freire AR. Oral health status of 207 head and neck cancer patients before,

- during and after radiotherapy. *Clin Oral Investig*. 2007; Sep 18 [Epub ahead of print]. DOI 10.1007/s00784-007-0149-5.
41. Johnson NW, Taylor BR, Berman DS. The response of deciduous dentine to caries studied by correlated light and electron microscopy. *Caries Res*. 1969; 3(4): 348-68.
 42. Jongebloed WL, Gravenmade EJ, Retief DH. Radiation caries. A review and SEM study. *Am J Dent*. 1988; 1(4): 139-46.
 43. Joyston-Bechal S. Prevention of dental diseases following radiotherapy and chemotherapy. *Int Dent J*. 1992; 42(1): 47-53.
 44. Karmiol M, Walsh RF. Dental caries after radiotherapy of the oral regions. *J Am Dent Assoc*. 1975; 91(4): 838-45.
 45. Kielbassa AM, Wrbas KT, Schulte-Mönting J, Hellwig E. Correlation of transversal microradiography and microhardness on in situ-induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. *Arch Oral Biol*. 1999; 44(3): 243-51.
 46. Kielbassa AM. In situ induced demineralization in irradiated and non-irradiated human dentin. *Eur J Oral Sci*. 2000; 108(3): 214-21.
 47. Kielbassa AM, Hinkelbein W, Hellwig E, Meyer-Lückel H. Radiation-related damage to dentition. *Lancet Oncol*. 2006; 7(4): 326-35.
 48. Kitajima EW, Leite B. Curso Introdutório de Microscopia Eletrônica de Varredura [apostila]. Piracicaba: ESALQ/USP; 1999.
 49. Koga DH, Salvajoli JV, Alves FA. Dental extractions and radiotherapy in head and neck oncology: review of the literature. *Oral Dis*. 2008; 14(1): 40-4.
 50. Kowalski LP, Carvalho AL, Priante AVM, Magrin J. Predictive factors for distant metastasis from oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*. 2005; 41(5): 534-41.
 51. Llewellyn CD, Johnson NW, Warnakulasuriya KAAS. Risk factors for oral cancer in newly diagnosed patients aged 45 years and younger: a case-control study in Southern England. *J Oral Pathol Med*. 2004; 33: 525-32.

52. Lopes-Jornet P, Camacho-Alonso F. New barriers in oral cancer. Patient accessibility to dental examination – A pilot study. *Oral Oncol.* 2006; 42(10): 1022-5.
53. Lopes MA, Della Coletta R, Alves FA, Abbade N, Rossi Jr A. Reconhecendo e controlando os efeitos colaterais da radioterapia. *Revista da APCD.* 1998; 52(3): 241-4.
54. Mahoney EK, Rohanizadeh R, Ismail FS, Kilpatrick NM, Swain MV. Mechanical properties and microstructure of hypomineralised enamel of permanent teeth. *Biomaterials.* 2004; 25(20): 5091-100.
55. Marx RE. Osteoradionecrosis: A new concept of its pathophysiology. *J Oral Maxillofac Surg.* 1983; 41(5): 283-8.
56. Mc Comb D, Erickson RL, Maxymiw WG, Wood RE. A clinical comparison of glass ionomer, resin-modified glass ionomer and resin composite restorations in the treatment of cervical caries in xerostomic head and neck radiation patients. *Oper Dent.* 2002; 27(5): 430-7.
57. McLeod NMH, Saeed NR, Ali EA. Oral cancer: Delays in referral and diagnosis persist. *Br Dent J.* 2005; 198(11): 681-4.
58. Massano J, Regateiro FS, Januário G, Ferreira A. Oral squamous cell carcinoma: review of prognostic and predictive factors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 102(1): 67-76.
59. Onizawa K, Nishihara K, Yamagata K, Yusa H, Yanagawa T, Yoshida H. Factors associated with diagnostic delay of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2003; 39(8): 781-8.
60. 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.
61. Reuther T, Schuster T, Mende U, Kübler A. Osteoradionecrosis of the jaws as a side effect of radiotherapy of head and neck tumour patients—a report of a thirty year retrospective review. *Int J Oral Maxillof Surg.* 2003; 32(3): 289-95.

62. Shaw MJ, Kumar NDK, Duggal M, Fiske J, Lewis DA, Kinsella T, *et al.* Oral management of patients following oncology treatment: literature review. *Brit J Oral Maxillofac Surg.* 2000; 38(5): 519-24.
63. Sciubba JJ, Goldenberg D. Oral complications of radiotherapy. *Lancet Oncol.* 2006; 7(2): 175-83.
64. Scully C, Felix DH. Oral medicine--update for the dental practitioner oral cancer. *Br Dent J.* 2006; 200(1): 13-7.
65. Shah JP, Singh B. Keynote comment: why the lack of progress for oral cancer? *Lancet Oncol.* 2006; 7(5): 356-7.
66. Ship JA. Oral health in elderly – What’s missing? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 98(6): 625-6.
67. Silverstone LM, Hicks MJ. The structure and ultrastructure of the carious lesion in human dentin. *Gerodontology.* 1985; 1(4): 185-93.
68. Springer IN, Niehoff P, Warnke PH, Bocek G, Kovacs G, Suhr M, *et al.* Radiation caries-radiogenic destruction of dental collagen. *Oral Oncol.* 2005; 41(7): 723-8.
69. Stevenson P, Epstein JB. The management of teeth in irradiated sites. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1993; 29B(1): 39-43.
70. Sulaiman F, Huryh JM, Zlotolow IM. Dental extractions in the irradiated head and neck patient: A retrospective analysis of Memorial Sloan-Kettering Cancer Center protocols, criteria, and end results. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003; 61(10): 1123–31.
71. Tjaderhane L, Hietala EL, Larmas M. Mineral Element Analysis of Carious and Sound Rat Dentin by Electron Probe Microanalyzer Combined with Back-scattered Electron Image. *J Dent Res.* 1995; 74(11): 1770-74.
72. Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FKL, Jansma J, Coppes RP. Prevention and treatment of the consequences of head and neck radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003a; 14(3): 213-25.

73. Vissink A, Jansma J, Spijkervet FKL, Burlage FR, Coppes RP. Oral sequela of head and neck radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003b; 14(3): 199-212.
74. Wahl MJ. Osteoradionecrosis prevention myths. *Int J Radiation Oncology Biol Phys.* 2006; 64(3): 661–9.
75. Warnakulasuriya S, Mak V, Möller H. Oral cancer survival in young people in South East England. *Oral Oncol.* 2007; 43(10); 982-6.
76. Wingo PA, Tong T, Bolden S. Cancer statistics. *Cancer.* 1995; 45(1): 8-30.
77. Wittekind CH, Henson DE, Hutter RVP, Sobin LH. International Union Against Cancer (UICC): TNM Supplement. A commentary on uniform use. 2nd ed. New York; 2001.

9. ANEXOS

Anexo A

Aprovação do Comitê de ética em pesquisa local.





COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Análise das características densitométricas, histológicas e ultraestruturais de dentes irradiados", protocolo nº 167/2006, dos pesquisadores **ALAN ROGER DOS SANTOS SILVA** e **MARCIO AJUDARTE LOPES**, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 14/11/2006.

The Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that project "Analysis of densitometric, histological and ultrastructural characteristics of irradiated teeth", register number 167/2006, of **ALAN ROGER DOS SANTOS SILVA** and **MARCIO AJUDARTE LOPES**, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for researching in human subjects and was approved by this committee at 14/11/2006.



Prof. Cecilia Gatti Guirado
Secretária
CEP/FOP/UNICAMP



Prof. Jacks Jorge Júnior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
 Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.

