

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**ESTUDO FOTOACÚSTICO E ÓTICO DE DENTES HUMANOS
SUBMETIDOS À RADIOTERAPIA**

Inês Vilain

Florianópolis.

2011.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

Inês Vilain

**ESTUDO FOTOACÚSTICO E ÓTICO DE DENTES HUMANOS
SUBMETIDOS À RADIOTERAPIA**

Tese submetida ao Programa de Pós
Graduação em Ciência e Engenharia de
Materiais da Universidade Federal de
Santa Catarina para a obtenção do
Grau de Doutor em Ciência e
Engenharia de Materiais.
Orientador: Prof. Dr. João Cardoso de
Lima

Florianópolis.

2011.

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária
da
Universidade Federal de Santa Catarina

V696e Vilain, Inês

Estudo fotoacústico e óptico de dentes humanos submetidos à radioterapia [tese] / Inês Vilain ; orientador, João Cardoso de Lima. - Florianópolis, SC, 2011.

172 p.: il., grafs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

Inclui referências

1. Engenharia de materiais. 2. Radioterapia. 3. Esmalte dentário. 4. Dentina. 5. Análise espectral. 6. Microscopia eletrônica de varredura. I. Lima, João Cardoso de. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. III. Título.

CDU 620.1

TERMO DE APROVAÇÃO

Aos meus pais,
Jacob Vilain Filho e
Gilda Francisca de Oliveira,
in memoriam.

AGRADECIMENTOS

A Deus, sempre presente em minha vida; guiando-me nesta jornada, apoiando-me incondicionalmente e privilegiando-me com os “anjos” que continuamente coloca no meu caminho.

Ao meu Mestre e orientador, Prof. João Cardoso de Lima, por permitir que eu compartilhasse um pouco da sua infindável sabedoria. Muito obrigada por suas palavras, ensinamentos, exemplo de conduta, de plena dedicação aos seus orientandos e à ciência. Minha gratidão e respeito.

Ao meu filho Ricardo, por toda a paciência e por todos os momentos dedicados a me instruir e a me fazer entender os processos físicos, mecânicos, matemáticos – todos básicos para minha formação. Apesar de todos os momentos estressantes por que passamos, saímos dessa etapa ainda mais unidos e grandes parceiros.

Aos meus filhos, Fernando e Eduardo, que mesmo não estando mais em contato diário, sempre souberam entender meus momentos de de tensão e de fadiga. E também por serem meus colegas de profissão, agradeço suas inestimáveis colaborações na obtenção das amostras, nas sugestões operacionais da pesquisa, que sempre foram muito bem-vindas, nas discussões odontológicas nem sempre convergentes, mas sempre essenciais para que este estudo pudesse ter uma utilidade prática.

Ao Professor Pedro Bernardini, pela orientação na confecção do equipamento para a fratura dos dentes, pelos acertados conselhos, e por me fazer acreditar que eu “daria conta”.

Aos físicos, Crystian Saraiva e Daniel Felipe, da Unidade de Radioterapia do Complexo Oncológico do CEPON, pelos ensinamentos de radioterapia, pelas orientações na construção dos fantasmas, nos cálculos das doses de radiação e, sobretudo, por toda a paciência e prontidão em me atender – a mim e ao meu fantoma – diariamente, por quase dois meses.

A todos os professores e funcionários da disciplina de Radiologia Odontológica da UFSC que, de uma forma ou de outra, proporcionaram as condições para que este trabalho fosse executado.

Ao meu amigo Rogerio Campos, secretário da PGMAT, por todo o apoio e incentivo, sempre que precisei.

Aos meus colegas de curso, Daniela e Sergio, sempre dispostos a colaborar, a dividir conhecimentos e, em particular, ao Claudio Poffo,

pela paciência em me capacitar no uso dos *softwares* necessários ao tratamento dos dados obtidos nas caracterizações.

Aos Técnicos e Bolsistas dos Laboratórios de Pesquisas do Departamento de Odontologia, do GDA, do LCME, do Labtermo, do Labmat, do Numa, que através de ensinamentos e disponibilidade em todos os momentos, permitiram que esta pesquisa se concretizasse.

Ao CEPON pela oportunidade de utilizar o equipamento de radioterapia, imprescindível para a execução deste experimento, e a todos os funcionários envolvidos no atendimento aos pacientes.

Ao Cirurgião Dentista Luiz Fernando Gil, residente do Curso de Cirurgia Buco-Maxilar, pela maioria absoluta das amostras conseguidas.

Aos pacientes que doaram seus dentes para que este estudo pudesse ser realizado.

Como é próprio de toda lista de agradecimentos, esta também vai estar incompleta. No entanto, gostaria de expressar minha sincera gratidão a todas as pessoas admiráveis que durante estes anos ofereceram sugestões, amizade e colaboração para que esta tese pudesse ser concluída.

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi caracterizar o efeito da radiação x, fornecida por um acelerador linear, sobre os tecidos dentais mineralizados (esmalte e dentina), visando compreender o(s) mecanismo(s) relacionado(s) com o destrutivo colapso da dentição que ocorre, após a radioterapia, em pacientes portadores de câncer de cabeça e pescoço. Os efeitos da radiação, nas formas de doses única e fracionadas, foram caracterizados através das técnicas Espectroscopia de absorção fotoacústica (PAS), Espectroscopia Raman (ER) e Microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para este estudo, 20 dentes humanos foram seccionados longitudinalmente, formando uma porção central, uma lingual e uma vestibular, as quais foram investigadas em três regiões distintas, a saber: esmalte, dentina coronária e dentina cervical, antes e após as irradiações. Um grupo formado por 10 dentes foi irradiado com uma única dose de 70 Gy, enquanto outro grupo formado também por 10 dentes foi irradiado com uma dose total de 70 Gy, porém fracionada em doses diárias de 2 Gy. A porção central foi caracterizada pelo PAS para medições do parâmetro físico de difusividade térmica, enquanto a porção vestibular, pela espectroscopia Raman, para análise química dos constituintes moleculares presentes. Outros 18 dentes foram fraturados longitudinalmente, em duas partes especulares, e divididos em dois grupos de nove dentes cada. Cada grupo teve uma parte que serviu como controle e a outra que foi irradiada nas mesmas condições dos dentes seccionados. Ambas as partes, de controle e irradiada, foram analisadas através do MEV, visando observar alterações microestruturais nas três regiões dentais definidas para as análises anteriores. Usando a técnica PAS, os valores do parâmetro de difusividade térmica para o esmalte e dentinas coronárias e cervicais, antes de serem irradiadas, foram medidos, e os valores encontrados estão de acordo com a literatura existente nessa área. Após a irradiação, foi observada a redução significativa nos valores da difusividade térmica tanto para o esmalte como para as dentinas coronária e cervical dos dois grupos (32% a 59%). A redução mais acentuada foi para o grupo submetido à irradiação usando dose fracionada e, em especial, para a dentina cervical. O uso da espectroscopia Raman, através da análise da intensidade e posição dos picos, pelo espectro associado à fase inorgânica (hidroxiapatita), mostrou-se uma ferramenta eficiente para diferenciação da dentina coronária e dentina cervical em dentes normais. A dose fracionada foi

mais deletéria para o esmalte do que a dose única de 70 Gy. A dentina cervical teve uma maior alteração quando em dose única, com $p = 0,005$. A análise topográfica do esmalte e dentinas (analisados via MEV) não mostrou alterações significativas para doses únicas e fracionadas. As informações químicas, físicas e estruturais são fundamentais para uma compreensão do comportamento dos tecidos dentais quando em ação normal ou quando submetidos à radioterapia. Essas informações também são críticas em termos de elucidar e quantificar a capacidade do dente de continuar mantendo, ou de criar, uma abordagem biomimética indispensável para conectar diferentes biomateriais utilizados na reconstrução dos tecidos dentais danificados pela ação das radiações usadas em radioterapia.

Palavras-chave: Radioterapia; Esmalte Dentário; Dentina; Análise Espectral Raman; Difusão Térmica; Microscopia Eletrônica de Varredura.

ABSTRACT

The objective of this research was to characterize the effect of x radiation, provided by a linear accelerator, on mineralized dental tissues (enamel and dentin) aiming to understand the possible(s) mechanism(s) related(s) with the destructive collapse of the dentition that occurs after radiotherapy in patients with head and neck cancer. The effects of radiation in the forms of single and fractionated doses, were characterized by techniques Photoacoustic Absorption Spectroscopy (PAS), Raman spectroscopy (RS) and scanning electron microscopy (SEM). For the study 20 human teeth were sectioned longitudinally forming a central, lingual and vestibular portions, which were investigated in three distinct regions, namely enamel, coronal dentin and cervical dentin before and after irradiation. A group of 10 teeth was irradiated with a single dose of 70 Gy, while another group was also formed by 10 teeth was irradiated with a total dose of 70 Gy, however, divided into daily doses of 2 Gy. The central portion was characterized by PAS for physical parameter measurements of thermal diffusivity, while the vestibular portion by Raman spectroscopy for chemical analysis of the molecular constituents present. Other 18 teeth were fractured longitudinally into two parts mirror and divided into two groups of 9 teeth each. Each group had a part that served as control and the other was irradiated under the same conditions of sectioned teeth. Both sides of irradiated and control groups were analyzed by SEM in order to observe microstructural changes in the three regions defined for dental previous analysis. Using the PAS technique parameter values for the thermal diffusivity of enamel and coronal dentin and cervical before being irradiated were measured and the values are consistent with the literature. After irradiation there was significant reduction in thermal diffusivity values for both the enamel and the coronary and cervical dentin of the two groups (32% to 59%). The reduction was more pronounced for the group subjected to irradiation using fractionated dose and in special to the cervical dentin. The use of Raman spectroscopy by analyzing the intensity and position of the peaks, the spectrum associated with the inorganic phase (hydroxyapatite), proved an efficient tool for differentiation of the coronal and cervical dentin in normal teeth. The fractionated dose was more deleterious to enamel than the single dose of 70 Gy. The cervical dentin had a greater change when a single dose, $p = 0.005$. Finally, topographic analysis of enamel and dentin (SEM analyzed) showed no significant changes for single doses

and fractionated. The chemical, physical and structural information are fundamental to understanding the behavior of dental tissues as in normal action or when treated with radiotherapy. This information is also critical in terms of elucidating and quantifying the ability of the tooth to continue holding or to create a biomimetic approach needed to connect different biomaterials used in the reconstruction of the dental tissues damaged by the action of radiation used in radiotherapy.

Keywords: Radiotherapy; Dental Enamel; Dentin; Spectrum Analysis, Raman; Thermal Diffusion; Microscopy, Electron, Scanning,

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Esquema de um acelerador linear.....	40
Figura 2.2 – Acelerador linear de 6 MeV – modelo Varian 6EX-IMRT.....	41
Figura 2.3 – Distribuição topográfica dos tecidos dentários.....	42
Figura 2.4 – Micrografia visualizando os prismas de esmalte – aspecto em escama de peixe.....	45
Figura 2.5 – Micrografia visualizando os prismas de esmalte dispostos longitudinalmente em um corte transversal – amostra 29a antes de ser irradiada.....	45
Figura 2.6 – Fotomicrografia de esmalte prismático e aprismático de um dente decíduo. MEV, 1.200x.....	46
Figura 2.7 – Fotomicrografia de dentina fraturada transversalmente, mostrando a dentina peritubular e a intertubular – amostra 26 antes de ser irradiada.....	47
Figura 2.8 – Fotomicrografia de dentina fraturada longitudinalmente, onde se observa a dentina intertubular e a peritubular (FEG SEM) – amostra teste.....	48
Figura 2.9 – Diagrama de um cristal de hidroxiapatita.....	50
Figura 2.10 – Projeção em uma superfície plana dos íons que configuram tridimensionalmente a estrutura cristalina da hidroxiapatita.....	50
Figura 2.11 – Estrutura cristalina da hidroxiapatita – célula unitária.....	57
Figura 2.12 – Estrutura da hidroxiapatita ao longo do eixo C.....	58
Figura 2.13 – Localização do Colo Dental.....	61
Figura 2.14 – Diagrama do nível de energia de espalhamento Rayleigh, espalhamento Raman Stokes e espalhamento Raman anti-Stokes.....	67
Figura 2.15 – Espectro Raman de duas regiões dentária.....	70
Figura 2.16 – Montagem típica de um espectrômetro fotoacústico	75
Figura 3.1 – Amostra 21 fixada no equipamento pela base resinosa - primeiro corte central.....	81
Figura 3.2 – Esquema dos cortes dentais.....	82
Figura 3.3 – Equipamento utilizado para fraturar os dentes.....	84
Figura 3.4 – Amostra dental preparada para fratura.....	85
Figura 3.5 – Dente posicionado para fratura.....	85
Figura 3.6 – Amostra 38 fraturada em seu longo eixo.....	86

Figura 3.7 – Demarcação em imagem radiográfica dos pontos analisados.....	87
Figura 3.8 – Amostra 09b com suas partes separadas e seus pontos de análises identificados para: PAS e Raman.....	88
Figura 3.9 – Micrografia das partes 28-a e 28-b - Demarcações das regiões analisadas no MEV.....	89
Figura 3.10 – Amostra 20 do grupo CDU antes de irradiada.....	91
Figura 3.11 – Amostra 26a do grupo FDU.....	92
Figura 3.12 – Espectro Raman da dentina cervical - amostra 07b.	95
Figura 3.13 – Medidas de absorção fotoacústica sendo realizadas nas três regiões.....	98
Figura 3.14 – Gráficos gerados pelo Origin, amostra 09b, dentina coronária.....	99
Figura 3.15 – Gráfico da fase do esmalte da amostra 05 antes da irradiação, mostrando a presença da descontinuidade na frequência de 30 Hz.....	101
Figura 3.16 – Gráfico da fase do esmalte - amostra 05 após ser irradiado, mostrando a presença da descontinuidade na frequência de 16 Hz.....	102
Figura 3.17 – Ajuste da curva obtida no cálculo da difusividade no esmalte da amostra 11b.....	103
Figura 3.18 – Dados da construção do Fantoma.....	105
Figura 3.19 – Visão dos dentes no fantoma.....	106
Figura 3.20 – Execução das marcações de linhas referenciais para o posicionamento correto do fantoma.....	106
Figura 4.1 – Média do espectro do esmalte antes de irradiado – Grupo CDF.....	110
Figura 4.2 – Média do espectro da dentina coronária antes de irradiada – Grupo CDF.....	110
Figura 4.3 – Mediana da intensidade dos picos antes da irradiação segundo os diferentes espectros de exposição – Dose Fracionada.....	112
Figura 4.4 – Mediana da intensidade dos picos antes da irradiação segundo os diferentes espectros de exposição – Dose Única.....	113
Figura 4.5 – Espectro Raman para o esmalte, dentina coronária e dentina cervical do grupo CDF antes da irradiação.....	118

Figura 4.6 – Espectro Raman da média das intensidades do esmalte antes e após a irradiação – Dose Fracionada.....	119
Figura 4.7 – Média dos espectros Raman da dentina coronária antes e após a irradiação – Dose fracionada.....	125
Figura 4.8 – Média dos espectros Raman da dentina cervical antes e depois de serem irradiados - Dose fracionada.....	128
Figura 4.9 – Média dos espectros Raman da dentina coronária antes e depois de serem irradiados - Dose única.....	131
Figura 4.10 – Média dos espectros Raman da dentina cervical antes e depois de serem irradiados – Dose única de 70 Gy.....	134
Figura 4.11 – Valores da difusividade térmica do grupo CDF para o esmalte, dentina coronária e dentina cervical, antes e após a irradiação.....	135
Figura 4.12 – Valores da difusividade térmica para as amostras do grupo CDU para o esmalte, dentina coronária e dentina cervical, antes e após a irradiação.....	136
Figura 4.13 – Fotomicrografia de esmalte da amostra 44b.....	144
Figura 4.14 – Fotomicrografia da dentina coronária da amostra 42b.....	145
Figura 4.15 – Fotomicrografia da dentina coronária da amostra 15b-a, antes de ser irradiada.....	146
Figura 4.16 – Fotomicrografia de esmalte da amostra 39.....	147
Figura 4.17 – Fotomicrografia da dentina coronária da amostra 26a.....	148
Figura 4.18 – Fotomicrografia da dentina coronária da amostra 39.....	149
Figura 4.19 – Fotomicrografia da dentina cervical da amostra 15a após irradiação com dose única.....	150

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Propriedades térmicas do esmalte e dentina.....	54
Tabela 2.2 – Valores de difusividade térmica do esmalte.....	55
Tabela 2.3 – Valores de difusividade térmica da dentina.....	55
Tabela 2.4 – Composição dos tecidos duros em % por volume (% por peso).....	56
Tabela 3.1 – Distribuição dos dentes cortados por grupos.....	82
Tabela 3.2 – Distribuição dos dentes fraturados por grupos.....	83
Tabela 3.3 – Distribuição dos grupos químicos nas regiões do espectro Raman correspondente a seus modos vibracionais – Porção Inorgânica.....	95
Tabela 3.4 – Distribuição dos grupos químicos nas regiões do espectro Raman correspondente a seus modos vibracionais. Porção Orgânica.....	96
Tabela 4.1 – Mediana das posições das bandas do espectro Raman para esmalte e dentina coronária do grupo CDF, antes de serem irradiadas.....	111
Tabela 4.2 – Mediana das intensidades dos picos antes da irradiação segundo as diferentes bandas para a dentina coronária do grupo CDF e CDU.....	114
Tabela 4.3 – Mediana das posições dos picos antes da irradiação segundo as diferentes bandas para a dentina coronária do grupo CDF e CDU.....	114
Tabela 4.4 – Mediana das intensidades das bandas da dentina coronária e cervical em dentes do grupo CDF antes de serem irradiados.....	115
Tabela 4.5 – Mediana da posição dos picos das bandas da dentina coronária e cervical em dentes do grupo CDF, antes de serem irradiados.....	116
Tabela 4.6 – Mediana e porcentagem da intensidade dos picos antes e após a radiação. Dose fracionada; Esmalte.....	119
Tabela 4.7 – Mediana da posição dos picos antes e após a radiação. Dose fracionada; Esmalte.....	120
Tabela 4.8 – Mediana da intensidade dos picos antes e após a radiação. Dose Única; Esmalte.....	122
Tabela 4.9 – Mediana da posição dos picos antes e após a	

radiação. Dose única; Esmalte.....	122
Tabela 4.10 – Mediana da intensidade dos picos antes e após a irradiação. Dose Fracionada; Dentina Coronária.....	124
Tabela 4.11 – Mediana da posição dos picos antes e após a irradiação. Dose Fracionada; Dentina Coronária.....	126
Tabela 4.12 – Mediana da intensidade dos picos antes e após a radiação. Dose Fracionada; Dentina Cervical.....	127
Tabela 4.13 – Mediana da posição dos picos antes e após a radiação. Dose Fracionada; Dentina Cervical.....	128
Tabela 4.14 – Mediana da intensidade dos picos antes e após a radiação. Dose Única; Dentina Coronária.....	130
Tabela 4.15 – Mediana da posição dos picos antes e após a radiação. Dose Única; Dentina Coronária.....	131
Tabela 4.16 – Mediana da intensidade dos picos antes e após a radiação. Dose Única; Dentina Cervical.....	132
Tabela 4.17 – Mediana da posição dos picos antes e após a radiação. Dose Única; Dentina Cervical.....	133
Tabela 4.18 – Mediana dos valores da difusividade térmica dos grupos CDF e CDU antes de serem irradiados.....	137
Tabela 4.19 – Mediana das medidas de difusividade térmica das amostras dentais do grupo CDF antes e após a irradiação.....	138
Tabela 4.20 – Mediana das medidas de difusividade térmica das amostras dentais do grupo CDU, antes e após a irradiação.....	139
Tabela 4.21 – Desvio Padrão das medianas dos valores da α dos grupos CDF, antes e após a irradiação.....	141
Tabela 4.22 – Desvio Padrão das medianas dos valores da α dos grupos CDU, antes e após a irradiação.....	141

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFM – Microscopia de Força Atômica
AL – Acelerador Linear
CCP – Câncer de Cabeça e Pescoço
CDF – Dentes Cortados e expostos à Dose Fracionada
CDU – Dentes Cortados e expostos à Dose Única
DNA – Ácido Desoxirribonucléico
ER – Espectroscopia Raman
FDF – Dentes Fraturados e expostos à Dose Fracionada
FDU – Dentes Fraturados e expostos à Dose Única
HDR – High Dose Rate
IMRT – Radioterapia com Intensidade Modulada de Feixe
JAC – Junção Amelocementária
JAD – Junção amelodentinária
LCME – Laboratório Central de Microscopia Eletrônica
LINAC – Linear Particle Accelerator
LSCM – Laboratório de Síntese e Caracterização de Materiais
MEV – Microscópio Eletrônico de Varredura
OHB – Oxigenoterapia Hiperbárica
OPC – Open Photoacoustic Cell
PAS – Photoacoustic Spectroscopy
RAD – Radiation Absorbed Dose
SI – Sistema Internacional
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina
UTV – Ultrasound Transmission Velocity

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	27
1.1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	27
1.2	OBJETIVOS.....	30
1.2.1	Objetivo geral.....	30
1.2.2	Objetivos específicos.....	30
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA – FUNDAMENTAÇÃO.....	31
2.1	CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO.....	31
2.1.1	Formas de tratamento.....	31
2.1.2	Efeitos colaterais da radiação.....	32
2.2	RADIOTERAPIA E ACELERADOR LINEAR.....	35
2.2.1	Terapia por radiação.....	35
2.2.2	Doses de radiação usada em pacientes com CCP.....	36
2.2.3	Uso do acelerador linear em tratamento de CCP.....	38
2.3	TECIDOS DENTÁRIOS MINERALIZADOS: ESMALTE E DENTINA.....	41
2.3.1	Propriedades estruturais e físicas, composição química e descrição morfológica.....	44
2.3.1.1	Estrutura histológica.....	44
2.3.1.2	Composição química.....	48
2.3.1.3	Propriedades físicas.....	52
2.3.1.4	Propriedades térmicas.....	53
2.3.2	O mineral hidroxiapatita na estrutura dental.....	55
2.3.3	Colo dental na morfologia dental.....	60
2.4	EFEITOS DA RADIAÇÃO NO ESMALTE E NA DENTINA.....	61
2.5	ESPECTROSCOPIA RAMAN E SEU USO PARA A REALIZAÇÃO DE MEDIDAS ÓPTICAS.....	65
2.5.1	Descrição física do efeito Raman.....	65
2.5.2	Espectro Raman.....	69
2.5.3	Vantagens da espectroscopia Raman.....	71
2.5.4	Raman e as estruturas dentais.....	71
2.6	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO FOTOACÚSTICA – CONFIGURAÇÃO CÉLULA ABERTA (OPC).....	74

3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	79
3.1	SELEÇÃO DAS AMOSTRAS.....	79
3.2	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	80
3.2.1	Amostras para corte.....	80
3.2.2	Amostras para fratura.....	83
3.2.3	Equipamento para fratura.....	83
3.2.4	Regiões dentais para as medidas.....	86
3.2.4.1	Amostras que sofreram cortes.....	86
3.2.4.2	Amostras que sofreram fratura.....	88
3.2.5	Preparo das amostras para MEV.....	89
3.3	TÉCNICAS USADAS PARA CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	90
3.3.1	Espectroscopia Rama.....	92
3.3.1.1	Coleta dos dados espectrais.....	93
3.3.1.2	Tratamento e análise dos dados espectrais.....	94
3.3.1.3	Análise estatística.....	96
3.3.2	Espectroscopia fotoacústica.....	96
3.3.2.1	Aquisição das medidas.....	97
3.3.2.2	Ajustes dos dados experimentais.....	100
3.3.3	Microscopia eletrônica de varredura.....	104
3.4	IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	104
3.4.1	Construção do fantoma.....	105
3.4.2	Irradiação.....	107
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	109
4.1	ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	109
4.1.1	Grupos CDF e CDU antes da irradiação.....	109
4.1.2	Dentina Coronária e Dentina Cervical antes da irradiação – comparativo.....	114
4.1.3	Esmalte.....	118
4.1.3.1	Dose Fracionada.....	118
4.1.3.2	Dose Única.....	121
4.1.4	Dentinas Coronária e Cervical.....	124
4.1.4.1	Dose Fracionada.....	124
4.1.4.2	Dose Única.....	129
4.2	ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA.....	134
4.3	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA....	142
4.3.1	Esmalte e Dentinas irradiadas com Doses Fracionadas.....	142

4.3.2	Esmalte e Dentinas irradiadas com Dose Única.....	146
5	DISCUSSÃO FINAL.....	155
6	CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....	157
	REFERÊNCIAS.....	157
	ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	164
	ANEXO B - Cálculo das doses de irradiação dos Fantomas.....	167
	ANEXO C - Relatório diário das irradiações.....	168
	ANEXO D - Estudo Piloto.....	171

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A anatomia e a fisiologia da cabeça e do pescoço são excepcionalmente complexas, e as funções básicas da visão, fala, deglutição, audição e olfato dependem de como aquelas estruturas intrincadas trabalham harmonicamente, pois muito da aparência física de uma pessoa baseia-se na forma e apresentação dessas composições faciais. Portanto, a função e aparência da região da cabeça e pescoço são fundamentais para a autoimagem e qualidade de vida, e a preservação da forma e função dos mesmos são elementos-chave na gestão global dos pacientes com câncer nessa região (SPECHT, 2002).

Para alguns pacientes com câncer de cabeça e pescoço (CCP), o tratamento com radiação é parte da terapia, que pode ser aplicada antes ou após a cirurgia, ou ser o único tratamento. No entanto, esta radioterapia, além de causar a morte das células neoplásicas, afeta também as células normais, originando, por vezes, severas complicações que podem diminuir, de forma bastante drástica, a qualidade de vida do paciente, bem como interferir no protocolo terapêutico e no prognóstico da doença original. A maioria destas complicações orais está diretamente relacionada ao volume total de tecido irradiado e à dose total de irradiação. Contudo, a intensificação da radioterapia no CCP levou a melhoras significativas no controle do tumor e no aumento da sobrevida desses pacientes (AL-NAWAS et al., 2000).

Dependendo da posição onde se encontra o tumor maligno, é inevitável que, além dos benefícios indiscutíveis anticâncer de ionização causados pela radiação, ocorram danos aos tecidos saudáveis situados no campo da radiação, como acontece com estas diversas estruturas dissimilares (glândulas salivares, mucosa oral, ossos maxilares, dentes etc.) que apresentam diferentes reações à radioterapia, efeitos estes que variam de alterações agudas a transientes, de intermediárias a efeitos retardados. Portanto, essas complicações colaterais podem manifestar-se durante o tratamento, logo após, ou tardiamente, após vários anos (KIELBASSA et al., 2006).

Entre as consequências clínicas, hiposalivação, mucosite, perda do sabor, trismo, osteorradionecrose e cáries de radiação são considerados como os efeitos colaterais mais comuns. A mucosite e a perda do sabor são consequências notórias, porém reversíveis ao

término da irradiação, enquanto a hipossalivação é geralmente irreversível. Já o risco da deterioração dental pelo início repentino das cáries rampantes de radiação e a osteorradionecrose são ameaças ao longo da vida.

São nesses efeitos colaterais tardios que estão incluídas a severa e debilitante destruição da dentição associada à perda da função mastigatória, que interfere na ingestão nutricional e nas atividades sociais diárias do paciente (MONTEIRO; BARREIRA; MEDEIROS, 2005).

Com o aumento da conservação da integridade dos dentes pela população e aumento da sobrevida devido às opções sofisticadas de tratamento, mais pacientes que foram submetidos à radioterapia estão apresentando as sequelas retardadas (crônicas). Este é o caso das cáries de radiação que passaram a estar muito mais presentes na vida dos pacientes que se submeteram à radioterapia. Assim, a participação ativa dos odontólogos no desenvolvimento de estratégias preventivas e terapêuticas, na instrução e na reabilitação desses pacientes é soberana no que diz respeito a melhorias na qualidade de vida após a radioterapia, devendo estar, do ponto de vista dental e social, entre os primeiros alvos a serem preservados ou restaurados em sua função e estética (KIELBASSA, 2006; SPECHT, 2002; MONTEIRO; BARREIRA; MEDEIROS, 2005; WALKER, 1975).

As características físicas, estruturais, fisiológicas e funcionais dos tecidos duros do dente são intrinsecamente dependentes tanto de seus constituintes químicos quanto da sua ultra-estrutura. Extensos estudos em dentes sadios foram realizados para determinar a composição molecular e a microestrutura dos tecidos duros calcificados e relacioná-los com a função e com as propriedades biomecânicas (TRAMINI et al., 2000; HSU et al., 2000; WENTRUP-BYRNE et al., 1997; PICHARDO et al., 2005; WALKER, 1975).

A composição do tecido duro parece sofrer mudanças desde o momento em que a matriz orgânica inicia sua mineralização, por todo o processo de maturação, e ainda durante toda a vida do hospedeiro. Estas, que continuam gradativamente após completada a formação do dente, são resultado do envelhecimento, das condições de vida, do meio ambiente, do uso e das doenças adquiridas ao longo de toda a vida (LOBO et al., 2004).

Assim, as informações químicas, físicas e estruturais são fundamentais para uma compreensão mais completa do comportamento dos tecidos dentais quando em ação normal ou quando submetidos à ação de diferentes formas de agressões, cargas, estímulos etc. Essas

informações também são críticas em termos de elucidar e quantificar a capacidade de continuar mantendo, ou de criar, uma abordagem biomimética indispensável para conectar diferentes biomateriais utilizados na reconstrução dos tecidos dentais que foram submetidos a danos.

Poucos ou raros são os trabalhos que estudam os efeitos da radioterapia sobre os dentes, e se estes precisam de um protocolo específico, quando da necessidade de serem restaurados, ou mesmo para a manutenção da sua integridade. Falta conhecer com segurança, o que ainda representa uma tarefa difícil, se os componentes dentais e restauradores sofrem alterações estruturais após a radioterapia – o que afetaria a troca de calor, a harmonia mecânica e fisiológica entre eles e também entre os diferentes tecidos dentais. Portanto, os materiais restauradores e estruturas dentais devem combinar suas propriedades mecânicas, térmicas e óticas com o intuito de manter a integridade das funções dentais, perdidas ou alteradas, sendo este o interesse primordial da restauração dental (PANAS et al., 2003; YAMADA et al., 2004; ANUSAVICE, 2005; ELIAS, 2007).

O uso de alguns tipos de materiais restauradores, quando expostos à variação de temperatura, pode provocar sensações dentais dolorosas que podem ser originárias dos diferentes coeficientes de difusividade térmica (α) entre dente/restauração ou restauração/restauração. Logo, é aconselhável que as propriedades térmicas efetivas dos materiais usados sejam as mais compatíveis possíveis com as propriedades térmicas dos tecidos dentais (PEÑA et al., 2000).

Com este estudo pretende-se contribuir para o aumento do conhecimento e esclarecimento das alterações químicas e estruturais que ocorrem no esmalte e na dentina de dentes de pacientes humanos com CCP, após a utilização de radioterapia. Espera-se também melhor entender o mecanismo relacionado com o agressivo e destrutivo colapso da dentição que ocorre após a radioterapia e, talvez, poder contribuir com possíveis sugestões estratégicas para minimizar os danos colaterais à estrutura do dente mineralizado, quando submetido à radioterapia para tratamento do CCP.

Isso foi feito através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia Raman (ER) e da comparação do valor da difusividade térmica, medida através de Espectroscopia de Absorção Fotoacústica (PAS), antes e depois da irradiação de dentes humanos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste estudo foi caracterizar mudanças químicas e estruturais que ocorrem no esmalte, na dentina coronária e na dentina cervical, após a terapia com radiação ionizante, em aplicações fracionadas e em dose única de 70 Gy.

1.2.2 Objetivos específicos

- Obter informações sobre a sensibilidade das técnicas usadas para caracterizar as possíveis alterações estruturais do esmalte e da dentina após a radioterapia;
- Investigar a existência de alterações estruturais no esmalte e na dentina após radiação equivalente à utilizada no tratamento de pacientes com CCP;
- Comparar os efeitos da irradiação em dose única e dose fracionada nas três regiões – esmalte, dentina coronária e dentina cervical;
- Pesquisar existência de correlação entre efeitos da irradiação do esmalte e da dentina com cárie de radiação.

Para alcançar esses objetivos as seguintes técnicas de caracterização foram usadas: microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia Raman (ER) e espectroscopia de absorção fotoacústica (PAS), usando a configuração de célula aberta (OPC).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA - FUNDAMENTAÇÃO

2.1 CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO

CCP refere-se a um grupo de câncer (ou tumor maligno) biologicamente similares, proveniente do trato aerodigestivo superior, abrangendo o lábio, cavidade oral, cavidade nasal, seios paranasais, faringe, laringe e tireóide. Também inclui o câncer de glândulas salivares, linfomas e sarcomas. Não são incluídos os tumores intracranianos (PAOLI et al., 2008; HEAD AND NECK CANCER, 2010).

A anatomia e fisiologia da cabeça e do pescoço são excepcionalmente complexas, e as funções básicas da visão, fala, deglutição, audição e olfato dependem de como aquelas complexas estruturas trabalham juntas, tornando esta interação da mais alta importância. Quase tão importante quanto, é a aparência física de uma pessoa, que é baseada na forma e apresentação dessas estruturas faciais. Por isso, preservar a forma e função dessas regiões é primordial no tratamento dos pacientes com CCP. Mesmo assim, o bem-estar físico, social e psicológico acaba sendo afetado pela deformação e disfunção decorrentes da doença e de seu tratamento. Devido a essa delicada situação, este grupo de pacientes necessita de atenção particular antes, durante e após o tratamento do câncer na região da cabeça e pescoço.

CCP é a quinta neoplasia maligna mais comum no mundo, representando 15% dos cânceres incidentes do sexo masculino, com cerca de 600 mil novos casos diagnosticados anualmente, e cerca de 270 mil em mulheres. O mais frequente tipo histológico observado é o carcinoma de células escamosas (ou carcinoma espinocelular), que incide em cerca de 90% a 95% dos casos de CCP (PAOLI et al., 2008; HEAD AND NECK CANCER, 2010).

2.1.1 Formas de tratamento

CCP é altamente curável quando detectado precocemente, como nos demais cânceres, pois quanto mais cedo diagnosticar-se o câncer maior a chance de cura e menores serão as sequelas do tratamento.

Os três principais tipos de tratamento para o câncer de cabeça e pescoço são a terapia de radiação, cirurgia e quimioterapia, sendo que os mais aplicados são a radioterapia ou a cirurgia, ou ambos combinados; quimioterapia é frequentemente usada como um tratamento adicional ou adjuvante. A combinação ótima das três modalidades de tratamento para um paciente com determinado câncer de cabeça e pescoço depende da localização e estágio do tumor, equipe de tratamento e aceitação geral do paciente. Em geral, se a remoção cirúrgica do tumor é indicada, a radiação é aplicada depois, quando necessária. Quando o câncer é extenso e não é possível removê-lo completamente através da cirurgia inicial, a radioterapia é inicialmente ministrada para tentar reduzir o tumor, sendo seguida pela cirurgia (PIETER et al., 2007).

Estudos recentes indicam, cada vez mais, que a quimioterapia realizada ao mesmo tempo que a radioterapia apresenta resultados mais eficazes do que quando aplicada anteriormente a uma programação somente de radioterapia. Assim, no tratamento de câncer em fase avançada (estágio III ou IV), a quimioterapia é incluída nos horários destinados à irradiação (JHAM; FREIRE, 2006).

A busca por métodos e protocolos cirúrgicos que venham a aumentar a sobrevida do paciente é incansável. Uma das abordagens terapêuticas mais evidenciadas atualmente é a oxigenoterapia hiperbárica (OHB). Essa forma de tratamento tem o intuito de aumentar a perfusão microvascular nos tecidos radionecróticos através da estimulação na proliferação capilar local. A OHB induz neovascularização por aumentar a tensão de oxigênio nos tecidos, o que permite, por um lado, a proliferação das células endoteliais, e, por outro, a proliferação dos fibroblastos, com aumento da síntese de colágeno, criando uma matriz para os capilares crescerem (MONTEIRO; BARREIRA; MEDEIROS, 2005).

2.1.2 Efeitos colaterais da radiação

A maioria dos tratamentos com radioterapia é realizado com doses altas de irradiação que englobam as partes ou a totalidade da cavidade oral, maxila, mandíbula e glândulas salivares maiores. Efeitos colaterais significativos manifestam-se na cavidade oral quando essas estruturas sensíveis estão no campo das doses de irradiação. Esses efeitos podem ocorrer na semana imediata após a irradiação ou durante o curso da mesma, chamados, nestes casos, de complicações de curto

prazo ou agudos; ou ainda podem mostrar-se muitos meses/anos após o tratamento – conhecidos como efeitos de longo prazo ou complicações crônicas da radiação.

A gravidade das complicações orais depende do quanto da cavidade oral e estruturas adjacentes são incluídas na área das altas doses de radiação, ou seja, a maioria das complicações está diretamente relacionada ao volume total irradiado e à dose total de radiação. A intensificação da radioterapia no CCP levou a significativas melhorias no controle do tumor e na sobrevida desses pacientes, mas também a um aumento dos efeitos crônicos da radioterapia. Esses efeitos podem variar desde um leve desconforto, se apenas pequenas partes da boca são irradiadas, a graves sintomas debilitantes, se grande parte da cavidade oral é afetada. (SPECHT, 2002; PIETER et al., 2007).

Entre as **complicações orais agudas**, destaca-se a **mucosite**, que é um termo geral que descreve um estado de irritação da mucosa. Em pacientes com terapia de radiação, a mucosite inicia-se pelo dano celular direto da radiação ionizante. A **infecção da mucosa oral** danificada é comum pelo grande aumento na incidência de colonização oral com *Cândida Albicans*, que pode causar uma infecção na mucosa que muitas vezes é confundida com mucosite induzida pela radiação.

Perda do paladar, embora não permanente, também está entre os sintomas que podem durar de várias semanas a vários meses após a radioterapia. Problemas alimentares são quase inevitáveis como resultado das combinações das complicações orais aguda, tornando os pacientes em tratamento do CCP propícios para o desenvolvimento de desnutrição. Além disso, os pacientes com CCP frequentemente apresentam déficits nutricionais antes mesmo do tratamento.

As **complicações orais crônicas** ocorrem meses ou anos após o tratamento, em contraste com as complicações agudas. Os danos crônicos causados pela radiação são geralmente irreversíveis, levando a uma permanente debilidade e diminuição da qualidade de vida. Um dos sintomas altamente incidentes é a **xerostomia** ou boca seca que é causada pelos danos da radiação induzida às principais glândulas salivares. Ocorre muito no início do curso da radioterapia e é, usualmente, apontada como sendo irreversível com doses superiores a 50 Gy (SPECHT, 2002; PIETER et al., 2007; JHAM; FREIRE, 2006).

Em revisão da literatura sobre as complicações orais após tratamento por radioterapia em CCP, Springer et al (2005) relatam o aumento da incidência da **cárie dentária** como consequência de xerostomia. Esta relação, xerostomia – cárie, é justificada como uma decorrência da radiação, em que a microbiota oral normal é

marcadamente alterada para uma população microbiana altamente cariogênica. Os dentes são afetados, independentemente se estão dentro ou fora do campo de radiação. A menos que medidas rigorosas sejam tomadas para protegê-los, a cárie dentária começa a desenvolver-se entre 3 e 6 meses após o tratamento por radiação e avança na destruição completa de todos os dentes ao longo de um período de 3 a 5 anos.

Já Jham e Freire (2006) apontam como causas para a cárie pós radiação, além da xerostomia, o efeito direto da radiação sobre os tecidos dentais, que, alterando sua estrutura, torna-os mais suscetíveis à descalcificação.

Complementos sobre os efeitos da radiação no dente são apresentados mais adiante, neste mesmo capítulo, na seção 2.4, no qual são relatados os efeitos da radiação na dentição humana.

Fibrose da submucosa e tecidos moles ocorre em muitos pacientes após a radioterapia e costuma ser assintomático.

Trismo, ou abertura limitada da boca, pode também ocorrer devido à fibrose dos músculos da mastigação (temporal, masseter e músculos pterigóideos). Problemas alimentares podem continuar na fase crônica após a radioterapia por causa dos efeitos colaterais crônicos acima mencionados. Muitos dos pacientes nunca recuperam o seu peso pré-mórbido.

Osteorradionecrose é uma doença crônica, relativamente rara, que surge como complicação após a irradiação do osso, normalmente com doses acima de 60 Gy. Ela está relacionada à hipocelularidade, hipovascularidade e isquemia de tecidos ao invés de infecção (SPECHT, 2002; JHAM; FREIRE, 2006).

Modernas técnicas de radioterapia, usando equipamentos com informática avançada e de alta precisão, estão permitindo colocar a dose de radiação quase precisamente onde se quer que ela atue. Estas técnicas – radioterapia tridimensional conformada e, a técnica mais avançada, radioterapia de intensidade modulada – estão sendo implementadas no tratamento de CCP. Ao usar o tratamento de imagem-guiada, para o planejamento e execução de tratamento controlado por computador, é possível dar forma ao volume de alta dose ajustada ao volume do tumor e evitar os tecidos normais críticos como, por exemplo, as glândulas salivares maiores. Mesmo com essas técnicas sofisticadas, que possibilitam uma maior taxa de cura, os efeitos colaterais permanecem sendo uma realidade na vida dos pacientes com CCP (SPECHT, 2002).

2.2 RADIOTERAPIA E ACELERADOR LINEAR

2.2.1 Terapia por radiação

Radioterapia é um método de tratamento que se baseia na propriedade que têm certos tipos de radiações de produzirem alterações físico-químicas nos componentes celulares. De uma maneira esquemática, pode-se dividir as células de qualquer tipo de organismo vivo em três partes: membrana, citoplasma e núcleo. Cada tipo de célula tem funções bem definidas no organismo e essas funções dependem de fenômenos físico-químicos que ocorrem naqueles componentes celulares. Assim, qualquer modificação nos seus constituintes altera os fenômenos físico-químicos, alterando, portanto, as funções da célula. As radiações utilizadas na radioterapia têm a propriedade de alterar os constituintes da membrana, do citoplasma ou do núcleo celular por meio da ionização. Daí o nome de ionizantes para denominar essas radiações (IAEA, 2005).

A medicina utiliza a radiação ionizante para o tratamento de diversas neoplasias e algumas doenças benignas, tendo a destruição das células tumorais em tumores malignos como um dos seus objetivos. Sua principal vantagem é a destruição das células malignas com maior rapidez e eficiência em relação ao ataque às células sadias.

Dois são os tipos de terapia por radiação: a teleterapia e a braquiterapia. A teleterapia emprega uma fonte de radiação externa, colocada à distância do paciente através de um aparelho emissor de radiação. Por essa razão, também é conhecida como radioterapia externa e representa a modalidade mais comum de tratamento radioterápico. Pode ser dividida em radioterapia superficial, semiprofunda e de megavoltagem, em função da energia da radiação emitida. A radioterapia externa de megavoltagem é a forma mais empregada de teleterapia, sendo realizada através das unidades de cobalto-60 e dos Aceleradores Lineares (AL), usando feixes de raios X, raios gama ou partículas, que são geradas distante do paciente (HEAD AND NECK CANCER, 2010; PAOLI et al., 2008).

Já a braquiterapia é uma terapia por radiação cuja fonte radioativa está muito próxima ou em contato direto com o tumor. Algumas formas de câncer são extirpadas nesse processo com grande precisão. Uma das vantagens da braquiterapia é que altas doses podem ser liberadas em um

tempo relativamente curto (minutos em alta taxa de dose, horas em média taxa de dose, ou dias em baixa taxa de dose) na localidade do tumor, enquanto que o tecido em volta recebe doses muito baixa, uma vez que a dose de radiação decresce rapidamente com o aumento da distância do órgão para a fonte de radiação (IAEA, 2005).

Nos dias atuais, a braquiterapia de alta taxa de dose com fonte de Ir-192, conhecido como *high dose rate* (HDR), está se consolidando como principal alternativa ao tratamento complementar de radioterapia, denominado tecnicamente como *boost*, sendo usado para vários tipos de tumores, dentre os quais estão incluídos os tumores de cabeça e pescoço. A liberação precisa da dose de radiação no tumor e controle da radiação que chega a outros órgãos ou tecidos próximos permite uma redução dos efeitos colaterais.

Atualmente, as duas técnicas (teleterapia e braquiterapia) estão mais evoluídas. De um lado, a conformacional, com planejamentos em três dimensões, permitindo atingir doses mais elevadas (~8.000 cGy) com baixa toxicidade, e de outro, a braquiterapia, com fontes em miniatura guiadas por controle remoto, determinando uma maior precisão da técnica, sem que ocorra qualquer exposição do médico e paramédicos à radiação (IAEA, 2005).

2.2.2 Doses de radiação usada em pacientes com CCP

Os conceitos de dose não devem ser confundidos com as definições de unidades de medida de radiação, embora seja possível estabelecer estreita correlação entre elas. Enquanto dose tem um conceito prático, as unidades de medida de radiação são definidas a partir dos efeitos físicos e físico-químicos que produzem nos meios expostos às radiações. Assim, são definidas unidades de Exposição (Roentgen), de Absorção (Rad) e de Efeitos Biológicos (Rem).

Dose absorvida é uma medida da energia depositada num meio. Exprime a quantidade de energia que uma radiação ionizante difunde a uma determinada quantidade de matéria. Uma unidade especial para a dose absorvida é o Radiation Absorbed Dose ou Dose Absorvida de Radiação (rad). É definida como uma dose de 100 erg de energia por grama de matéria. No Sistema Internacional (SI) a sua unidade é J/kg, a qual foi dado o nome de Gray (Gy).

Um dos conceitos que mais interessa ao consultor hospitalar é o que o radioterapeuta chama de “rendimento”, indicado em cGy por

minuto. A quantidade de radiação aplicada no paciente é normalmente dada em cGy. O Gray (Gy) é a unidade que corresponde à dose de radiação absorvida pela matéria, ou seja, qualquer material ou tecido vivo, sendo aplicada, por um determinado tempo, num volume de tecido que engloba o tumor, buscando erradicar todas as células tumorais, com o menor dano possível às células normais circunvizinhas (HEAD AND NECK CANCER, 2010).

A maioria dos pacientes com CCP tratados com intenção curativa recebem uma dose total de radiação entre 50 e 70 Gy pré ou pós-operatória para tratamento de tumores malignos, sendo que para tratamento dos linfomas geralmente é usado uma dose menor.

Uma das medidas necessárias na radioterapia é o fracionamento das doses. As células dos tecidos sadios recuperam-se mais rapidamente que as células tumorais quando são submetidas a doses de radiação subletais. Essas mesmas doses subletais têm um efeito aditivo nas células tumorais levando-as à morte e mantendo vivas as células dos tecidos sadios. A dose total aplicada de uma só vez seria mortal tanto para os tecidos sadios quanto para o tumor. Entretanto, com o fracionamento das doses, apenas as células tumorais são destruídas (PAOLI et al., 2008).

A dose total geralmente é administrada de forma fracionada de 2 Gy, uma vez ao dia, cinco dias por semana, durante um período de cinco a sete semanas. Por haver uma diferença entre as respostas do tecido tumoral e tecido normal à radiação, usualmente ocorre a reparação do tecido normal aos danos subletais no DNA (ácido desoxirribonucléico), especialmente em intervalo de baixa dose. Aplicando radiação X em frações de 2 Gy, amplia-se as diferenças nas respostas entre o tecido tumoral e o tecido normal. A irradiação fracionada permite o repovoamento de tecido entre as frações (principalmente durante o fim de semana, quando o tumor e tecidos normais não são irradiados), reduzindo assim os efeitos precoces da radiação. Isso, no entanto, também aplica-se para uma rápida proliferação de tecido maligno (KIELBASSA et al, 2006; VISSINK et al., 2003).

A determinação experimental de doses é realizada utilizando-se um simulador do corpo humano, normalmente a água, por ser um dos principais componentes dos tecidos do corpo humano. Detectores de radiação são colocados dentro do simulador, comumente um fantoma de água, através de câmaras de ionização, em várias profundidades com relação ao plano de incidência do feixe.

Quando um feixe de radiação incide num meio material, a dose absorvida vai variando à medida que o feixe penetra nesse meio. Essa

variação depende de vários fatores, tais como o tipo de radiação, energia do feixe, profundidade etc. Assim, o cálculo da dose num determinado ponto do interior de um paciente envolve considerações sobre esses diferentes aspectos, bem como de diferentes tipos de heterogeneidades.

A partir dos dados básicos (curva de rendimento em profundidade e perfis de dose), calculam-se as chamadas isodoses, que descrevem a distribuição de dose no meio irradiado. É com base nessas distribuições de dose que, nos sistemas de planejamento comerciais, o radioterapeuta estabelece a dose prescrita para cada patologia, a qual serve de referência para o cálculo da dose no cotidiano da radioterapia. Uma vez simulados os campos de radiação dos aceleradores lineares é possível fazer a simulação da dose absorvida em sistemas complexos.

Um fenômeno muito importante em radioterapia é o chamado “espalhamento”, que é, de certo modo, uma radiação dispersa ou refletida. Tal importância se deve ao fato de que o “espalhamento” influi grandemente sobre todos os cálculos de dosagem para os aparelhos de raios X de baixa energia, pois aumenta a radiação recebida pelo tecido e também compensa com ampla margem a perda sofrida por absorção no tecido pela radiação (IAEA, 2005).

O tempo e duração do tratamento dependem do tipo de tumor, seu tamanho e localização. Isso já é conhecido a nível experimental. Assim o tempo e duração do tratamento são dependentes das diferentes radiosensibilidades específicas de cada tumor. Uma análise do custo-benefício para tecido tumoral e tecidos normais adjacentes é realizada para que se decida qual a melhor forma de realização do tratamento, que irá variar de acordo com o tipo e localização do tumor (PIETER et al., 2007).

2.2.3 Uso do acelerador linear em tratamento de CCP

No início da radioterapia, logo após a descoberta dos raios X por Roentgen, em 1895, a tecnologia de produção de radiação foi primeiramente voltada para fótons de alta energia e intensidade e, mais recentemente, para a produção computadorizada de feixes de intensidade modulada.

O progresso tecnológico, durante os primeiros 50 anos da radioterapia, foi relativamente lento, tendo como base os tubos de raios X, geradores de Van de Graaff e betatrons (IAEA, 2005).

O primeiro equipamento de terapia de megavoltagem foi a teleterapia de ^{60}Co , desenvolvido no Canadá em 1950. A invenção da máquina de ^{60}Co deu um grande impulso na busca de fótons com energias mais altas, colocando a fonte de ^{60}Co na vanguarda do tratamento radioterápico por muitos anos. Isso ocorreu principalmente porque ele incorporou uma fonte radioativa que se caracteriza por apresentar recursos extremamente úteis na radioterapia. A fonte de ^{60}Co associa a emissão de energias relativamente altas pela emissão de raios gama a uma meia-vida longa, alta especificidade a um meio de produção relativamente simples (IAEA, 2005).

Os aceleradores lineares foram desenvolvidos simultaneamente por dois grupos: WW grupo de Hansen na Universidade de Stanford, nos EUA, e pelo grupo DD Fry da Telecommunications Research Establishment, no Reino Unido. Ambos os grupos estavam interessados em aceleradores lineares para fins de pesquisa e utilizaram a tecnologia do radar por micro-ondas desenvolvido durante a II Guerra Mundial.

O primeiro LINAC (*Linear Particle Accelerator*) clínico foi instalado, em 1950, no Hospital Hammersmith, em Londres. Nos anos subsequentes, o Linac passou a substituir a unidade de cobalto e tornou-se a fonte de radiação mais utilizadas na radioterapia moderna, sendo que hoje existem milhares de unidades na prática clínica em todo o mundo. Em contraste com uma fonte de ^{60}Co que produz, essencialmente, apenas energia de 1,25 MeV, um acelerador linear pode fornecer tanto elétrons com megavoltagem quanto fons de raios X com uma vasta gama de energias.

Apesar de claras vantagens tecnológicas e práticas dos Linacs sobre as máquinas ^{60}Co – como a facilidade na administração de uma determinada dose, a uniformidade da emissão, a regularidade do funcionamento e a polivalência, isto é, a possibilidade de empregar o aparelho para tratar vários tipos de lesões, conforme sua localização em relação a superfície do organismo. As unidades de Cobalto-60 ainda ocupam um lugar importante no arsenal de radioterapia, sobretudo por causa dos custos consideravelmente mais baixos de instalação e manutenção em comparação com os aceleradores lineares (IAEA, 2005).

Nos aceleradores lineares, o feixe de radiação é produzido no “gantry”, estrutura sob a qual o paciente é posicionado e que pode girar ao redor da mesa de tratamento. Para delinear os campos de irradiação, existem os colimadores que ficam localizados no cabeçote do aparelho e delimitam a saída do feixe de radiação em campos quadrados ou retangulares (Figura 2.1). Para as áreas irregulares são confeccionadas

barras protetoras que delimitam a área a ser irradiada. Elas são produzidas em chumbo ou cerrobend (liga metálica com ponto de fusão menor que o do chumbo), cuja espessura varia de acordo com a energia de radiação a ser utilizada.

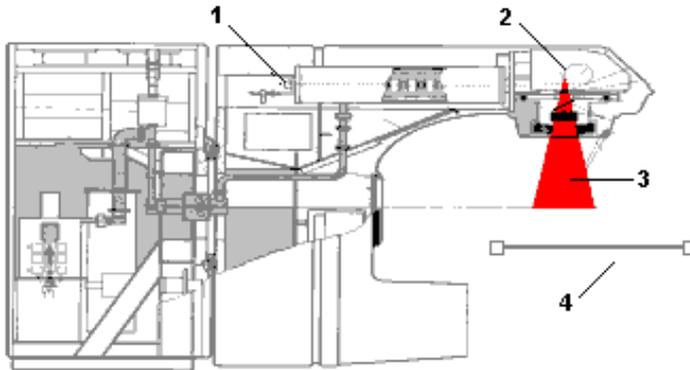


Figura 2.1 - Esquema de um acelerador linear.

1. Fonte de elétrons. 2. Alvo. 3. Feixe de elétrons ou fótons. 4. Mesa de tratamento.

Fonte: <<http://fsc.ufsc.br/~canzian/intrort/fig-esquemaacel.html>>.

Os modelos de aceleradores lineares são normalmente classificados de acordo com a energia máxima produzida. Um acelerador de 6 MV produz radiação de energia de até 6 MeV (Figura 2.2).



Figura 2.2 – Acelerador linear de 6 MeV – Modelo Varian 6EX – IMRT.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Radioterapia tridimensional conformada (3D) é uma técnica de tratamento destinada à distribuição espacial da alta dose de radiação ao volume alvo, reduzindo assim a dose entregue aos tecidos normais. A radioterapia com intensidade modulada de feixe (IMRT) é ainda mais conformada do que as técnicas 3D. Essa nova técnica otimizada atribui pesos aos raios individuais de um feixe em oposição a um peso único para o feixe como um todo. Este último torna possível produzir padrões de distribuição de doses que permitirá minimizar as doses aos tecidos normais (VISSINK et al., 2003; TERRA, 2005).

2.3 TECIDOS DENTÁRIOS MINERALIZADOS: ESMALTE E DENTINA

O dente humano é constituído por três camadas de tecido mineralizado permeáveis, com estruturas altamente complexas – esmalte, dentina e cemento. A coroa dental, porção dental não revestida por tecido ósseo, é composta basicamente de dentina recoberta por esmalte que está diretamente em contato com o meio bucal. O contato dentina-esmalte se dá através da junção amelodentinária (JAD), sendo esta uma interface entre os dois tecidos mineralizados que apresentam diferentes composições e propriedades biomecânicas (Figura 2.3)

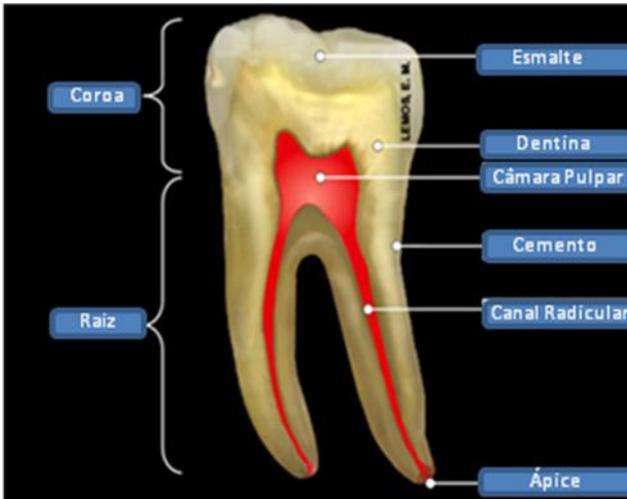


Figura 2.3 – Distribuição topográfica dos tecidos dentários

Fonte: <<http://professorparriao.blogspot.com/>>.

O esmalte, que é a camada externa, pode ser considerado como um revestimento natural altamente aperfeiçoado que deve, além de manter sua forma, resistir à fratura e ao desgaste durante toda a vida do indivíduo. Atua na função de suportar as mais variadas situações de carga a que é submetido pelo contato direto com os dentes opostos e/ou outros objetos, podendo atuar de forma normal ou deslizante. A ação dessas cargas pode resultar em desgaste do esmalte que é uma estrutura não autorreparável (XU et al., 2009; FERRARIS et al., 2006).

Em estudo para avaliar a força máxima de mordida em 10 adultos jovens, Ferrario et al (2004) chegaram a valores que oscilaram entre 446 N e 1200 N. Valores semelhantes foram encontrados em recente revisão de literatura, feita por Koc et al (2010), sobre força de mordida e os fatores que influenciam essas medidas. Relataram que as forças da mastigação alternam entre 28 N e mais de 1200 N, podendo ser a área sob tensão tão pequena quanto alguns milímetros quadrados. Por isso é surpreendente que o esmalte dental humano consiga sustentar e sobreviver a tão altas cargas por milhões de ciclos durante toda uma vida (HE; SWAIN, 2009; KOC; DOGAN; BEK, 2010). Assim, o esmalte, que tem origem ectodérmica, é o tecido mais duro do organismo. Muito frágil, é composto por milhões de prismas altamente

mineralizados. Essa dureza se deve principalmente a sua alta porcentagem de cristais de hidroxiapatita na composição inorgânica – em torno de 96%, muito baixa de água – de 2 a 3%, e de matriz orgânica – 0,36 – 2%. Sua matriz orgânica é de natureza proteica, não havendo participação de colágeno como na dentina (XU et al. 2009; FERRARIS et al., 2006; WENTRUP-BYRNE et al., 1997).

Os cristais de hidroxiapatita, da sua porção inorgânica, encontram-se densamente reunidos, sendo maiores em tamanho do que qualquer outro tecido mineralizado do corpo humano. São solúveis à ação dos ácidos bucais, sendo esta a origem das cáries dentais de esmalte (FERRARIS et al., 2006).

O esmalte maduro não contém células nem prolongamentos celulares como a dentina, não sendo, portanto, considerado um tecido, mas sim como uma substância extracelular altamente mineralizada. É uma estrutura avascular, acelular e sem inervação, incapaz de reparar-se frente a um trauma com perda de substância, como ocorre com alguns tecidos mineralizados do organismo (HE; SWAIN, 2009; FERRARIS et al., 2006).

A dentina é o eixo estrutural do dente, delimitando-se externamente na região coronal pelo esmalte, na porção radicular pelo cimento e internamente pela cavidade pulpar, onde se aloja a polpa dental. Sua espessura é variável, dependendo da região dental, chega a alcançar 3 mm nos molares. De origem mesodérmica, é um tecido mais flexível que o esmalte devido a sua composição, em que a matriz orgânica e água estão em torno de 30%, e a porção inorgânica em 70% (LOBO et al., 2004).

A estrutura da dentina é composta por uma matriz mineralizada e pelos túbulos dentinários, com aproximadamente 1µm de diâmetro, que percorrem toda sua extensão, e onde se alojam os processos odontoblásticos. Esses túbulos são preenchidos por líquido e pelos prolongamentos citoplasmático das células odontoblásticas que se encontram na cavidade pulpar, sendo rodeados por colunas cilíndricas de dentina peritubular. As células odontoblásticas produzem a matriz colágena da dentina e participam do seu processo de calcificação. A dentina e polpa formam um complexo em íntima relação topográfica, embriológica e funcional (FERRARIS, 2006; PEREIRA, 2009).

O estudo da dentina e de seus componentes é de significativa importância, uma vez que a patogenia da cárie se dá com maior intensidade neste tecido, pois se apresenta mais suscetível a desmineralização em meio ácido. O estudo da dentina também é destacado na reversão de quadros de hipersensibilidade dentinária, que

provoca sensação dolorosa em número considerável de pessoas, decorrente da movimentação de fluídos no interior dos túbulos dentinários estimulando as fibras nervosas (LOBO et al., 2004).

2.3.1 Propriedades estruturais e físicas, composição química e descrição morfológica

2.3.1.1 Estrutura histológica

Esmalte:

A unidade estrutural básica é constituída pelos prismas de esmalte, que são compostos pelos cristais de hidroxiapatita. No esmalte encontramos uma porção chamada de esmalte prismático que constitui a maior parte deste “tecido” mineral, e uma pequena porção na periferia externa do esmalte e junto à JAD, que não constitui nem configura prisma, chamado de esmalte aprismático (FERRARIS, 2006).

Os prismas são estruturas longitudinais que possuem em média 4µm de espessura, estendendo-se por toda a largura do esmalte, num percurso sinuoso. É menor junto à JAD e aumenta proporcionalmente à medida que se aproxima da superfície externa do esmalte. Há uma variação entre 5 e 12 milhões de prisma no esmalte que é dependente do volume da coroa dental.

As imagens ao microscópio eletrônico de varredura (MEV), quando os prismas são cortados longitudinalmente, são como bandas delgadas, irregulares e paralelas. Quando cortados transversalmente, apresentam-se irregularmente hexagonais, ovoides ou em escamas de peixe como pode ser visto na figura 2.4 e 2.5 (YAMADA et al, 2004).

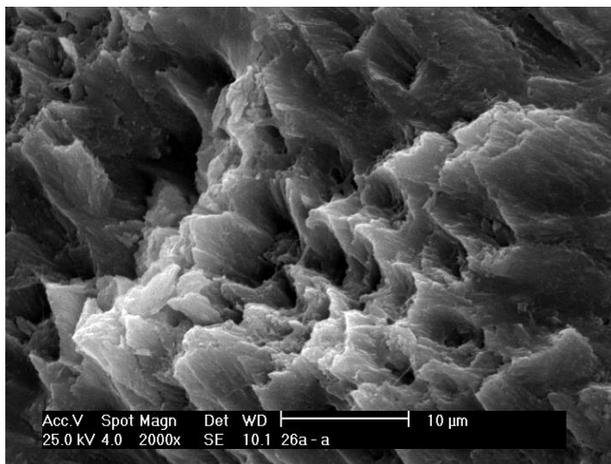


Figura 2.4 – Micrografia visualizando os prismas de esmalte – Aspecto em escamas de peixe

Fonte: Elaborada pelo autor.

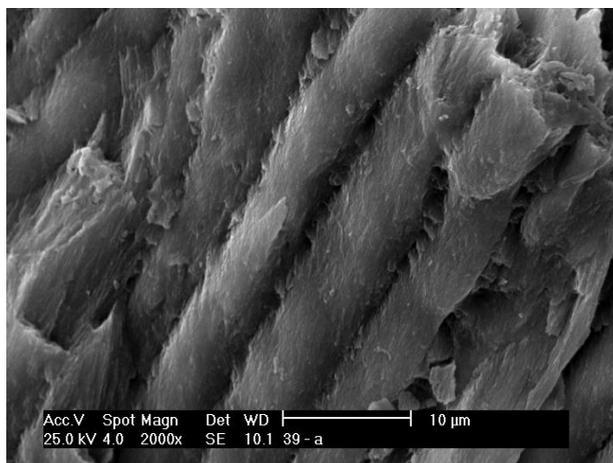


Figura 2.5 – Micrografia visualizando os prismas de esmalte dispostos longitudinalmente em um corte transversal – Amostra 29a antes de ser irradiada.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O esmalte aprismático, que se encontra na superfície do dente, ocupando uma espessura de 30 a 100µm, é um esmalte sem prismas, que

está presente em 70% dos dentes permanentes e em todos os dentes decíduos. Nesse esmalte, os cristais de hidroxiapatita se dispõem paralelos entre si e perpendiculares à superfície externa (Figura 2.6) (TAGLIAFERRO et al, 2009).

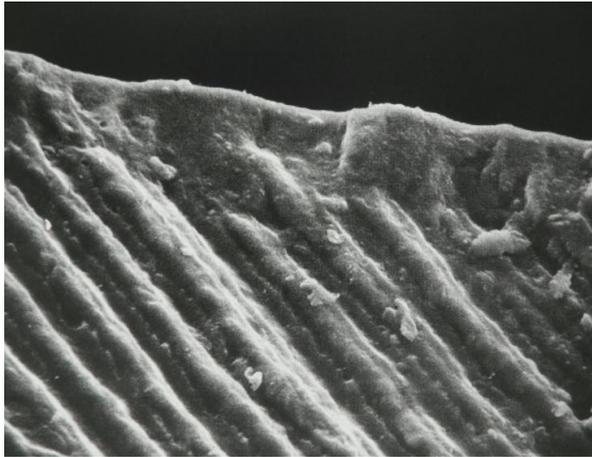


Figura 2.6 – Fotomicrografia de esmalte prismático e aprismático de um dente decíduo. MEV, 1.200 x.
Fonte: FERRARIS, 2006.

Dentina:

A dentina é constituída, sobretudo, por duas unidades estruturais básicas: túbulos dentinários ou canalículos dentinários e dentina intertubular ou matriz intertubular.

- Túbulos dentinários:

São estruturas delgadas que se estendem desde a polpa até a JAD, por um percurso de 1,5 a 2 mm. A parede do túbulo é formada por dentina peritubular, composta por uma característica matriz mineralizada. Em seu interior alojam-se o processo odontoblástico e o fluido dentinário, responsáveis pela vitalidade da dentina.

Seu número é bastante variável, sendo que na região coronária próxima à polpa é de, aproximadamente, 45.000 a 65.000 por mm^2 e, na periferia, é de 15.000 a 20.000 por mm^2 ; numa proporção de 22% por 1%. Na região radicular adjacente, a polpa é de 24.000 por mm^2 e no cimento, é de 12.000 por mm^2 . Esta diferença no número dos túbulos na

região próxima à polpa e na região do seu contorno externo se deve à migração dos odontoblastos, quando da formação das sucessivas camadas de dentina que leva à redução da cavidade pulpar.

Seu diâmetro também é bastante variável, chegando a 5 μm próximo à polpa e a 1,7 μm na região periférica da dentina, podendo ficar parcialmente ou totalmente obliterado com o passar da idade pelo depósito contínuo de dentina peritubular.

Os túbulos são rodeados por uma parede chamada de **dentina peritubular** com espessura junto à polpa de, aproximadamente, 400 nm, e na porção periférica da dentina chega a 750 nm. Isso justifica o fato do diâmetro interno dos túbulos variar de 2,5 μm na parte interna e de 0,9 μm na parte externa da dentina, tornando-a mais permeável próxima à polpa. Por ser altamente mineralizada, é facilmente distinguível tanto pela microscopia eletrônica quanto na ótica em cortes transversais, tendo um aspecto de halo claro, contrastando nitidamente com a dentina intertubular, mais escura, como pode ser vista na figura 2.7. Seus cristais de hidroxiapatita são ricos em magnésio, carbonato e fosfato de cálcio. Nesta região, a dureza chega a alcançar 2,45 GPa. A parte orgânica dessa dentina é constituída por substâncias não colagenosas como as glicoproteínas, proteoglicanos e lipídios (SOARES et al., 2007; FERRARIS, 2006; CAMERLINGO et al., 2004).

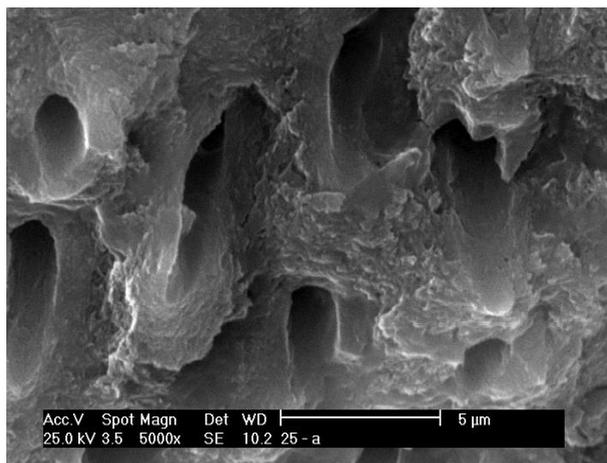


Figura 2.7 – Fotomicrografia de dentina fraturada transversalmente, mostrando a dentina peritubular e a intertubular – Amostra 26 antes de ser irradiada.

Fonte: Elaborada pelo autor.

- Dentina intertubular:

Esta dentina encontra-se entre as paredes dos túbulos dentinários e é constituída por fibras de colágeno, formando uma rede fibrilar, na qual, entre e sobre a mesma depositam-se os cristais de hidroxiapatita (Figura 2.8). Sua dureza varia significativamente entre a região próxima à polpa e a externa, sendo de 0,51 a 0,15 GPa, respectivamente.

A baixa dureza da dentina é dada muito mais pela baixa dureza da dentina intertubular do que pelo número de túbulos dentinários por área. Assim, o comportamento mecânico da dentina é dominado pelo comportamento da dentina intertubular (SOARES et al., 2006).

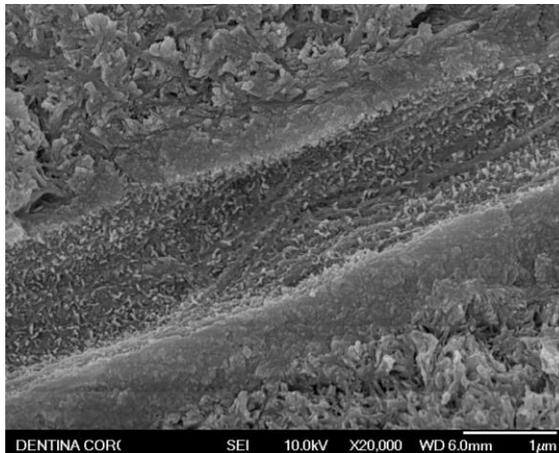


Figura 2.8 – Fotomicrografia de dentina fraturada longitudinalmente, onde se observa a dentina intertubular e a peritubular (FEG SEM) – Amostra teste.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2.3.1.2 Composição química

Esmalte:

A matriz orgânica do esmalte (até 2%) é de natureza protéica que forma um complexo sistema de polipeptídios multiagregados, não

definitivamente esclarecido. Diversas proteínas com pesos moleculares e propriedades diferentes compõem esta fase orgânica. Entre as principais, encontra-se a amelogenina, que está presente numa proporção de, aproximadamente, 90% no início da amelogênese, mas que diminui progressivamente com a maturação do esmalte, por isso são chamadas de proteínas do esmalte imaturo. Esta matriz orgânica situa-se entre os cristais de sais minerais, mas não estão ligadas a eles. As amelinas situam-se na periferia do cristal formando as proteínas de superfície e podendo estar também entre eles. Representam de 2 a 3% da matriz orgânica do esmalte. As ameloblastinas ou amelinas estão na camada mais externa do esmalte e na periferia dos cristais. Constituem 5% da porção orgânica (SOARES et al., 2006; LOBO et al., 2004; WENTRUP-BYRNE et al., 1997).

A matriz inorgânica é constituída basicamente por sais minerais cálcicos de fosfato e carbonato. Esses sais organizam-se na fórmula $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, como no osso, na dentina e no cimento. Mas, diferente destas regiões, no esmalte parece não existir fosfato de cálcio amorfo. Além dos minerais de cálcio com carbonato e fosfato, também se encontra oligoelementos como potássio, magnésio, ferro, flúor, manganês, cobre etc. Os íons flúor podem substituir as hidroxilas transformando a hidroxiapatita em fluorapatita, tornando-a menos solúvel aos ácidos, portanto, mais resistentes à cárie (FERRARIS, 2006; NISHINO et al., 1981).

Quando os níveis de pH estão abaixo do nível crítico (pH= 5,5), há dissolução e perda de íons de cálcio e fosfato da fase mineral do esmalte. Porém, quando o pH está acima do valor crítico, ocorre o processo inverso, chamado de remineralização do esmalte. O que determinará a formação de cárie é a prevalência da desmineralização em relação à remineralização. A fluorapatita tem valor crítico de pH de, aproximadamente, 4,5, ou seja, menor que a hidroxiapatita, tendo, portanto, maior resistência ao ácido produzido pelas bactérias. Quanto maior for a conversão de hidroxiapatita em fluorapatita, maior será a resistência do esmalte diante de valores baixos de pH (HSU et al., 2000; LEVENTOURI et al., 2009).

Estes cristais de apatita apresentam uma morfologia hexagonal, quando seccionados perpendicularmente ao longo do seu eixo, e retangular, quando seccionado paralelamente ao longo do seu eixo.

São mais volumosos que os da dentina, chegando a 100-1.000 nm de comprimento, 30-70 nm de largura e 10-40 nm de altura, conforme mostra a figura 2.9.

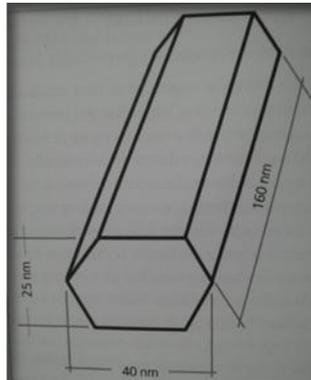


Figura 2.9 – Diagrama de um cristal de hidroxiapatita
Fonte: FERRARIS, 2006.

Os cristais de apatita, independente da forma externa, são constituídos por células unitárias que possuem uma configuração química e cristalográfica também hexagonal, com íons de cálcio, localizados nos vértices, e um íon de OH no centro. Outro grupo de íon cálcio encontra-se na periferia da hidroxila no interior do hexágono de cálcio, conforme pode ser visto na figura 2.10. Os íons fosfato situam-se entre os íons cálcio, que estão nos vértices do hexágono externo.

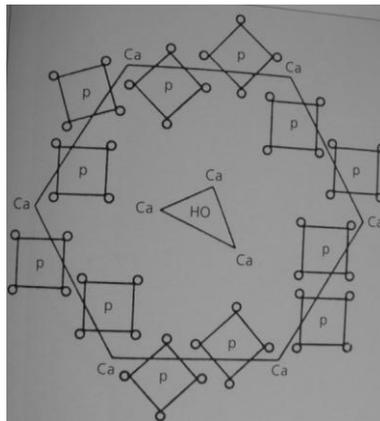


Figura 2.10 – Projeção em uma superfície plana dos íons que configuram tridimensionalmente a estrutura cristalina da hidroxiapatita.
Fonte: Apud – LEVENTOURI (2009)

Na superfície do esmalte, encontra-se o flúor e os carbonatos, que desempenham um papel antagônico. O flúor, incorporado aos cristais, aumenta sua resistência à cárie, e um maior percentual de carbonatos torna o esmalte mais suscetível ao início da cárie, ou seja, aumenta a taxa de dissolução da estrutura. A concentração do carbonato aumenta a partir das camadas externas para as internas do esmalte (LEGEROS et al., 1967; FERRARIS, 2006; WENTRUP-BYRNE et al., 1997).

A água, como componente do esmalte, encontra-se na periferia do cristal, formando a chamada “capa de hidratação” ou “capa de água adsorvida”. A quantidade de água no esmalte diminui progressivamente com a idade.

Dentina:

A dentina é composta por, aproximadamente, 70% (% em peso) de material inorgânico mineralizado, 18 a 20% de material orgânico, e 10% a 12% de água, variando nas distintas regiões do dente, e também sofre variação de acordo com a deposição contínua e progressiva de minerais após a formação e erupção do dente (XU et al., 2009; LOBO et al., 2004, SPRINGER et al., 2005).

90% da sua matriz orgânica são compostas por colágeno tipo I, que formam as fibras. Os colágenos tipos III, IV, V e VI estão presentes em baixa quantidade e em diferentes circunstâncias, estando sujeito à presença de anomalias dentinárias e ao estágio de formação dental. Entre os demais componentes presentes, destaca-se a proteína fosfoforina dentinária por ser o componente mais abundante depois do colágeno.

A matriz inorgânica é composta por cristais de hidroxiapatita quimicamente semelhantes ao esmalte, diferenciando-se no tamanho, sendo pequeno e delgado, com aproximadamente 36 nm de comprimento, 25 nm de largura e 10 nm de altura. Orientam-se paralelamente às fibras colágenas da matriz dentinária, colocando-se entre as fibras e também dentro delas, ocupando os espaços das moléculas de colágeno que as formam.

Também estão presentes, na porção mineral, os fosfatos amorfos, carbonatos, sulfatos e oligoelementos como flúor, cobre, zinco, ferro, magnésio etc., à semelhança da porção mineral do esmalte (FERRARIS, 2006).

2.3.1.3 Propriedades físicas

Esmalte:

Entre as propriedades físicas, a **dureza** do esmalte corresponde à escala 5 de Mohs, que é equivalente à da apatita. Esta decresce da superfície periférica do dente para a JAD, em relação direta ao grau de mineralização do esmalte. Estudos estabelecem valores médios de dureza entre 3,1 e 4,7 GPa para os dentes permanentes. Por ser o esmalte anisótropo, técnicas de nanoindentação associadas à Microscopia de Força Atômica (MFA) encontram diferenças nos valores médios de dureza ao medir os prismas em direção paralela ($3,9 \pm 0,3$ GPa) e em direção perpendicular ($3,3 \pm 0,3$ GPa). Essas divergências ocorrem devido às diferentes orientações na quantidade e na direção dos cristais de hidroxiapatita nas diferentes regiões dos prismas de esmalte (FERRARIS, 2006; KOC; DOGAN; BEK, 2010).

Como apresenta uma quantidade de água e substâncias orgânica muito escassa, sua **elasticidade** também é muito baixa, o que o torna um tecido muito frágil com tendência à micro e maxifratura, principalmente em ausência de suporte dentinário. Os valores médios do módulo de elasticidade de Young variam de $87,5 \pm 2,2$ GPa, quando as medidas são tomadas paralelamente ao eixo central dos prismas, e de $72,7 \pm 4,5$ GPa, quando for perpendicular ao eixo dos prismas (BOWES; MURRAY, 1935).

Apesar de sua **permeabilidade** ser extremamente insignificante, pesquisas com marcadores radioativos têm demonstrado que o esmalte pode atuar como uma membrana semipermeável, permitindo que a água difunda-se por ele e seja um agente transportador de íons de flúor (FERRARIS, 2006).

O esmalte é **translúcido**, o que é atribuído ao seu grau de mineralização e homogeneidade. Quanto maior o grau de mineralização, maior a translucidez. Portanto, a aparente coloração do esmalte é dada pelas estruturas subjacentes, principalmente pela dentina (BOWES; MURRAY, 1935).

Dentina:

A **dureza** da dentina, que é determinada por seu grau de mineralização, é muito menor que a do esmalte, mas um pouco maior do

que a do osso e a do cimento. Em dentes permanentes, os valores de dureza encontram-se entre 0,57 e 1,13 GPa.

A **elasticidade** dentinária varia de acordo com sua porcentagem de matriz orgânica e a água que a compõe, tendo valores médios do módulo de Young entre 17,6 e 22,9 GPa. Sua elasticidade é de grande importância funcional, pois amortece os impactos mastigatórios, compensando a rigidez do esmalte (LOBO et al., 2004).

A presença dos túbulos dentinários lhe confere uma **permeabilidade** bem maior do que a do esmalte. É através desses túbulos que se dá a passagem de microorganismos, medicamentos, corantes etc. Essa propriedade é de grande importância clínica, pois está diretamente relacionada ao emprego dos sistemas de adesão dos biomateriais nas reconstruções dentais (FERRARIS, 2006).

A **coloração** da dentina varia em tons de amarelo, dependendo do grau de mineralização, idade, vitalidade pulpar e pigmentos endógenos. Por ser menos mineralizada do que o esmalte é menos translúcida do que ele.

2.3.1.4 Propriedades térmicas

As propriedades termofísicas são divididas em duas categorias distintas: as de transporte e as termodinâmicas. As propriedades termodinâmicas, tais como densidade (ρ) e calor específico (c_p), são relacionadas ao estado de equilíbrio do material, ou seja, não envolvem gradiente térmico. Já a propriedade de transporte de calor, em que podemos citar a condutividade térmica, indica a razão do calor a ser transferida pelo processo de difusão. Essa propriedade depende de fatores tais como estrutura molecular e atômica.

Os sólidos cristalinos (como esmalte e dentina) apresentam os átomos em arranjos periódicos chamados de rede cristalina. As ondas vibracionais da rede são o fator principal para a condução de energia térmica em cerâmicas e, conseqüentemente, nos tecidos dentais duros. Essa propagação é feita por *quanta* de vibração de rede chamada fônons.

A difusividade térmica é definida como a razão entre a capacidade de conduzir e a de armazenar calor de um material. Essa propriedade termofísica específica indica quão rapidamente um corpo responde às variações de energia térmica as quais é submetido, conforme é descrito na equação 2.1 (abaixo).

$$\alpha = \frac{k}{\rho c_p} \quad (2.1)$$

onde: k é a condutividade térmica, c_p é o calor específico e ρ é a densidade mássica.

A tabela 2.1 apresenta e compara os valores de algumas propriedades térmicas do esmalte e da dentina, percebendo-se claramente as acentuadas diferenças entre as duas estruturas.

Tabela 2.1 – Propriedades térmicas do esmalte e dentina

		Esmalte	Dentina
Condutividade Térmica	($\text{Wm}^{-1} \text{K}^{-1}$)	0,88	0,59
Difusividade Térmica	($10^{-7} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$)	4,69	1,85
Coefficiente de Expansão Térmica Linear	(10^{-6}K^{-1})	11,4	8,3

Fonte: BRADEN, 1985.

Materiais com alto valor de difusividade térmica respondem mais rapidamente às mudanças térmicas, enquanto materiais com pequenos valores de difusividade térmica respondem mais lentamente a essas mudanças, demorando a alcançar um novo estado de equilíbrio térmico. A difusividade térmica é uma importante propriedade de transporte de calor, pois indica quanto de energia térmica é transferida em função de um transiente de calor. O valor da difusividade térmica de um material pode ser influenciado por diversos fatores, tais como perda de água, mudanças cristalográficas e mudanças morfológicas (BRADEN, 1985).

Por estar a difusividade diretamente relacionada à condutividade térmica, alterações nos valores destes repercutem em mudanças no valor da difusividade. Dessa forma, é de extrema importância a temperatura em que as medidas são tomadas, pois a elevação de temperatura pode, em uma primeira aproximação, aumentar o valor de condutividade térmica, pois a temperatura está diretamente relacionada ao aumento do caminho livre médio dos fônons em qualquer material. Além disso, os materiais podem ter mudanças nos parâmetros de rede, podendo até ter

alterações na estrutura da célula unitária, conforme a temperatura na qual eles sejam submetidos.

Então, sendo a difusividade sensível à microestrutura, à composição química e às condições de processamento do material, a medida de α é uma estratégia apropriada para avaliar mudanças estruturais ocorridas devido a processos de irradiações (EL-BROLOSSY et al., 2005; RODRIGUEZ et al., 2000). Nesta tese, usamos essa grandeza para monitorarmos a possível alteração de sensibilidade térmica nas estruturas dentárias após serem irradiadas por radiação X.

A literatura descreve diversos estudos reportando valores para as propriedades térmicas para o esmalte e para a dentina. Valores estão listados nas tabelas 2.2 e 2.3, onde podemos observar que existe uma pequena variação nos valores da difusividade térmica tanto para o esmalte quanto para a dentina.

Tabela 2.2 – Valores de difusividade térmica do esmalte

Difusividade	Valor (m^2/s)
Craig Peyton	$4,8 \times 10^{-7}$
Braden	$4,7 \times 10^{-7}$
Panas	$4,1 \times 10^{-7}$

Fonte: Elaborada pelo autor

Tabela 2.3 – Valores de difusividade térmica da dentina

Difusividade	Valor (m^2/s)
Craig Peyton	$1,8 \times 10^{-7}$
Braden	$2,4 \times 10^{-7}$
Panas	$2,2 \times 10^{-7}$
de Magalhaes	$2,3 \times 10^{-7}$

Fonte: Elaborada pelo autor

2.3.2 O mineral hidroxiapatita na estrutura dental

As propriedades do esmalte e da dentina estão intimamente relacionadas com sua cristalinidade e composição química e, em particular, com o percentual de material orgânico presente em cada uma delas (Tabela 2.4).

Tabela 2.4 – Composição dos tecidos duros em % por volume (% por peso)

	Osso	Dentina	Esmalte
Inorgânico	41 (64)	48 (69)	92 (97)
Orgânico	48 (31)	29 (20)	2 (1)
Água	11 (5)	23 (11)	6 (2)

Fonte: BRADEN, 1985.

O principal componente inorgânico do esmalte e da dentina é o fosfato de cálcio na forma de hidroxiapatita, $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, com cada cristal composto por milhares destas estruturas moleculares (Figura 2.11).

A melhor prova inicial de que os dentes são compostos de apatita foi obtida por Jong, em 1926, a partir da análise de raios X (BOWES; MURRAY, 1935). Desde então, vem sendo exaustivamente estudada nas mais variadas formas, das sintéticas às biológicas ou orgânicas. As sintetizadas em altas temperaturas apresentam boa cristalinidade e cristais grandes, e as hidroxiapatitas sintetizadas em baixas temperaturas apresentam baixa cristalinidade e cristais pequenos (LOBO et al., 2004).

Estudos analisando as diferenças entre apatitas sintéticas e biológicas salientam a importância da presença da matriz orgânica, formada por 85-90% de fibrilas de colágeno do tipo I, que fornecem um meio de suporte sobre o qual o cristal de apatita mineral cresce. Também destacam a importância da presença das poucas proteínas, que fornecem resistência estrutural adicional (PEZZOTTI, 2005; FERRARIS, 2006).

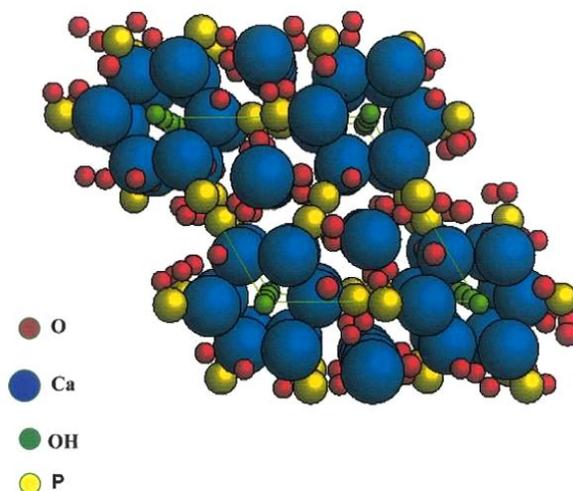


Figura 2.11 – Estrutura cristalina da hidroxiapatita – célula unitária
Fonte: Apud – LEVENTOURI et al (2009)

A hidroxiapatita cristaliza-se no sistema hexagonal, grupo espacial $P6_3/m$ e dimensões de célula unitária $a = b = 9,42 \text{ \AA}$ e $c = 6,88 \text{ \AA}$. A célula unitária hexagonal da hidroxiapatita contém 10 íons cálcio, localizados em sítios não equivalentes, quatro no sítio I (Ca_I) e seis no sítio II (Ca_{II}). Os íons cálcio no sítio I estão alinhados em colunas, enquanto os íons cálcio do sítio II estão em triângulos equiláteros perpendiculares à direção c da estrutura. Os átomos de cálcio e fósforo formam um arranjo hexagonal no plano perpendicular ao eixo cristalino de mais alta simetria (eixo c), conforme mostra a figura 2.12.

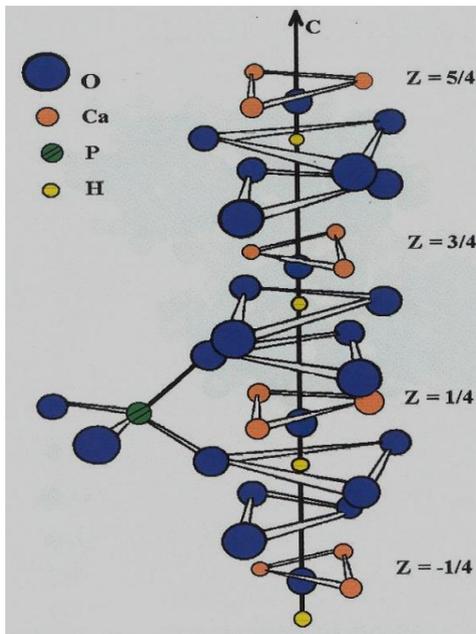
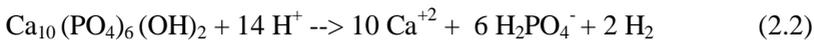


Figura 2.12 – Estrutura da hidroxiapatita ao longo do eixo C
 Fonte: Apud – LEVENTOURI (2009)

A hidroxiapatita, formada por fosfato de cálcio, com razão Ca/P igual a 1,67, é muito pouco solúvel em pH acima de 5,5, porém se dissolve em ambiente ácido, pois tanto o PO_4^{-3} quanto o OH^- reagem com H^+ , conforme descrito na equação 2.2 (PEREIRA, 2009).



A estrutura da hidroxiapatita permite substituições catiônicas e aniônicas isomorfas com grande facilidade. O Ca^{+2} pode ser substituído por metais tais como o Pb^{+2} , Cd^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} , Sr^{+2} , Co^{+2} , Fe^{+2} etc., os grupos fosfatos por carbonatos e vanadatos e as hidroxilas por carbonatos, flúor e cloro. Essas substituições podem afetar a cristalinidade, os parâmetros de rede, as dimensões dos cristais, a textura superficial, a estabilidade e a solubilidade da estrutura da hidroxiapatita. Portanto, a composição típica da hidroxiapatita carbonatada biológica é, como seria esperado para um material biológico, variável devido à substituição por íons como F^- , Mg^{+2} , Cl^- , Al^{+3} , Ba^{+2} , Na^+ e Sr^{+2} na sua

rede. Dessa forma, as características físicas e biológicas da hidroxiapatita carbonatada, dependem em certa medida, desses substituintes iônicos (WENTRUP-BYRNE et al., 1997).

Pereira (2009), em trabalho para determinação da difusividade térmica do esmalte e dentina, destacou que a ação térmica devido ao *laser* ou a outro tipo de procedimento também pode alterar as características cristalográficas da matriz mineral do tecido, alterando os parâmetros de rede cristalina e o tamanho dos cristais, podendo promover o surgimento de microespaços na superfície do esmalte.

O esmalte e a dentina humana contêm grandes quantidades de íons carbonato (1,95-3,66% e 5-8% em peso, respectivamente) e a sua presença está relacionada com a suscetibilidade do esmalte/dentina à cárie, ou seja, com a dissolução da estrutura. Assim, a localização do CO_3^{-2} nas estruturas dentais tem sido objeto de intensas pesquisas. Várias possibilidades plausíveis para a localização de CO_3^{-2} são propostos: CO_3^{-2} pode ser adsorvido ou preso como um CaCO_3 amorfo, substituindo o PO_4^{-3} ou o OH^- na apatita do esmalte. Assim, o íon CO_3^{-2} substitui o OH^- no carbonato tipo A e o PO_4^{-3} no carbonato tipo B. Esta substituição do carbonato na matriz da hidroxiapatita causa efeitos na natureza do tecido. Verificou-se que a hidroxiapatita carbonatada é termicamente e quimicamente menos estável e mais solúvel que a hidroxiapatita estequiométrica. Também foi determinado que os cristais de hidroxiapatita carbonatada são menores em tamanho e mais equiaxiais do que a hidroxiapatita estequiométrica sintética. Isso dá aos cristallitos de hidroxiapatita carbonatada uma maior relação de superfície. Portanto, tanto no esmalte quanto na dentina, o aumento de carbonato na célula unitária de hidroxiapatita aumenta a suscetibilidade do dente à cáries (NISHINO et al., 1981; LOBO et al., 2004; KO et al., 2005).

Do ponto de vista biológico, o flúor é uma impureza importante da hidroxiapatita dos tecidos calcificados. Nas hidroxiapatitas, os carbonatos ocupam sítios dos íons fosfato e dos íons OH numa razão de 10:1. Nas carboapatitas do tipo A, os íons carbonato localizam-se em canais e ocupam os mesmos sítios que os íons hidroxila. Nas carboapatitas do tipo B, os íons carbonato ocupam os sítios dos íons fosfatos. Os grupos carbonatos podem acelerar os processos de dissolução da estrutura, o que é verificado nas cáries dentárias, pois o processo de desmineralização das bioapatitas é frequentemente determinado pela quantidade e localização dos íons de carbonatos na rede de hidroxiapatita. Assim, a substituição dos grupos OH⁻ pelo flúor torna a estrutura mais hexagonal, mais estável e menos solúvel que a

hidroxiapatita estequiométrica, conseqüentemente mais resistente aos ácidos do meio bucal (LEGEROS et al., 1967; FERRARIS, 2006; TSUDA; ARENDS, 1994; WALKER, 1975; RODRIGUES; CURY; NOBRE, 2004).

2.3.3 Colo dental na morfologia dental

Colo dental é a região do dente que separa anatomicamente a coroa e a raiz, delimitando-as pela chamada junção amelocementária (JAC), sendo um importante ponto de referência na clínica odontológica (Figura 2.13).

Em pacientes adultos jovens, a JAC dos dentes permanentes é protegida pelo tecido gengival. Com o avançar da idade, ocorre uma erupção passiva contínua dos dentes, para compensar o desgaste da superfície incisal/oclusal, e uma recessão gengival fisiológica que expõe essa região ao ambiente oral, tornando-a vulnerável às alterações patológicas como cárie de raiz, reabsorção e abrasão (FERRARIS, 2006). Portanto, nessa região, durante o maior tempo de vida do indivíduo, a dentina encontra-se descoberta pelo esmalte na região correspondente à coroa dentária e pelo cemento na porção radicular dos dentes, ficando exposta ao meio bucal. Portanto, essa condição pode ser devido à formação anatômica congênita, ou adquirida como resultado da recessão gengival patológica ou fisiológica.

Arambawatta et al (2009), estudando a distribuição dos tecidos mineralizados que compõem a JAC em dentes de pacientes jovens extraídos por motivos ortodônticos, relataram que em qualquer dente a distribuição dos tecidos mineralizados na JAC é irregular e imprevisível. Encontraram um predomínio (51%) do modo de inter-relação de borda entre cemento radicular e esmalte e, em aproximadamente, um terço da amostra foi observado diferenças entre o cemento e o esmalte deixando a dentina exposta. Esta frequência das diferenças entre esmalte e cemento, com a exposição da dentina, sugere que essa região é frágil e fortemente predisposta a alterações patológicas. Com o aumento da população idosa é previsto um aumento no número de lesões na superfície cervical radicular envolvendo a JAC. Por isso, a mesma deve ser protegida e cuidadosamente conduzida durante procedimentos clínicos de rotina.

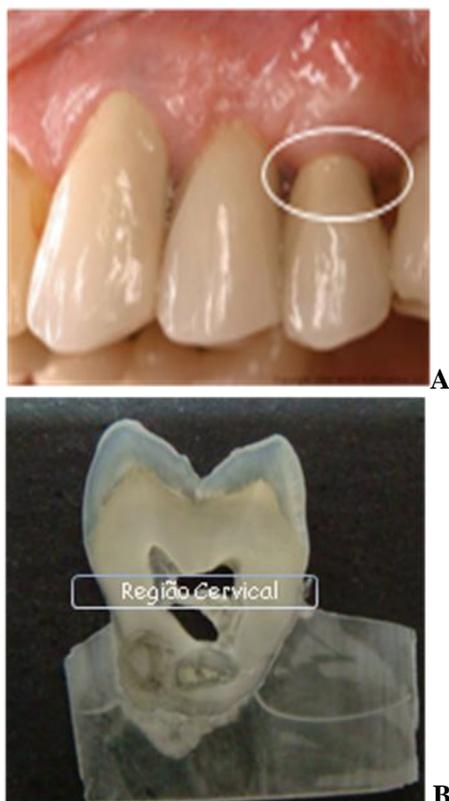


Figura 2.13 – Localização do Colo Dental.

A – Colo dental clínico sendo indicado pelo círculo. B – Região do colo dental destacado em um corte dental longitudinal.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2.4 EFEITOS DA RADIAÇÃO NO ESMALTE E NA DENTINA

Os efeitos da elevada dose de radiação à cabeça e pescoço no dente humano vem sendo relatado há muitos anos, mas o mecanismo pelo qual são produzidos permanece controverso.

Entre os danos da irradiação, a hipersensibilidade dos dentes de pacientes irradiados é um efeito comum da radioterapia, mas a razão exata permanece obscura, parecendo estar relacionada à perda da camada protetora de saliva sobre os dentes. Portanto, seria mais uma

consequência da ação da radiação sobre as glândulas salivares do que um efeito direto da radiação sobre os dentes (KIELBASSA et al., 2006).

A complicação colateral da radioterapia para tratamento do CCP mais ameaçadora para a dentição, entretanto, é a cárie de radiação, que é uma forma altamente destrutiva do dente, caracterizada por ter início e progressão rápida. Tendo em conta a rápida progressão, é surpreendente ser rara a presença de dor aguda associada à cárie de radiação, mesmo em suas manifestações mais graves. Sendo uma das doenças de maior prevalência no mundo, a elevada incidência de cárie em pacientes que sofreram tratamento radioterápico é motivo para as mais variadas abordagens científicas que buscam desvendar as exatas causas das chamadas “cárie de radiação” (VISSINK et al., 2003; WIEMANN; DAVIS; BESIC, 1972; WALKER, 1975).

Dois explicações alternativas são sugeridas para a cárie de radiação: uma é que a radiação altera diretamente a suscetibilidade dos dentes à destruição cariosa pela alteração da sua estrutura, e a outra é que a radiação causa disfunção da glândula salivar que, por sua vez, produz xerostomia, uma circunstância associada com o aumento da atividade cariosa (KIELBASSA et al., 2006; WALKER, 1975; GRÖTZ et al, 1998).

Wiemann et al, em 1972, e Walker, em 1975, estudaram a ação das doses de radiação para tratamento de CCP sobre os dentes. O primeiro utilizou dose total ao tumor de 6.500 rad (65 Gy), que foram fracionados por um período de 33 dias. O segundo utilizou doses únicas de 3.500 rads (35 Gy) e 5.000 rads (50 Gy) produzidos por uma unidade de cobalto-60. Apesar de metodologias diferentes, o objetivo de ambos era medir o efeito direto da radiação na solubilidade do esmalte e da dentina. Tanto o estudo de Wiemann et al quanto o de Walker foram conclusivos quanto a não haver correlação direta entre a dose de irradiação e solubilidade do dente. Os resultados indicaram que a irradiação terapêutica não afeta significativamente a solubilidade dos dentes à desmineralização *in vivo*.

Hsu et al (2000), em estudo de análise, também sobre a solubilidade do esmalte irradiado, mas com *laser* CO₂, demonstraram que, em ambos, tanto o esmalte irradiado e não irradiado, a matriz orgânica desempenha um papel importante na inibição da cárie. Por isso, além da solubilidade do esmalte, a formação de cáries envolve também a eficiência da difusão de íons no esmalte/dentina. Tem sido sugerido que o caminho dessa difusão é controlada pela rede de matriz orgânica, que ocupa os espaços inter e intraprismáticos no esmalte, e os espaços inter e intracanalicular na dentina. A matriz orgânica, do

esmalte e da dentina, foi mostrada como sendo responsável pelo retardo na desmineralização desses tecidos durante um ataque ácido.

Springer et al., em 2005, tentaram esclarecer se havia um efeito radiogênico direto e imediato no índice de colágeno presente na matriz extracelular do tecido dental que seria responsável pelas cáries de radiação (além do fator hipossalivação). Concluíram que a irradiação não afeta o colágeno mensurável nos tecidos dentais mineralizados, mas que as alterações não encontradas podem ter sido devido à baixa concentração de proteínas presentes na dentina e no esmalte. Entretanto, no tecido pulpar ficou demonstrado os danos radiogênicos diretos e imediatos sobre o colágeno. Finalizaram sugerindo que a destruição radiogênica do colágeno pulpar representa um componente adicional nos danos induzidos pela radiação direta, e que este contribui sinergisticamente com a hipossalivação para o desenvolvimento da cárie.

Seguindo um caminho diferente, Al-Nawas et al (2000) utilizam a velocidade de transmissão do ultrassom (UTV- Ultrasound transmission velocity) para análise das propriedades mecânicas da dentina e esmalte após irradiação *in vitro*, *in situ* e *in vivo* com doses de 36, 60 e 62 Gy. Relatam que a deterioração das propriedades mecânicas do esmalte sofrem enormes variações, especulando-as com a presença de umidade no interior do dente, pois dizem que a hidroxiapatita não é afetada por variações nas condições experimentais de irradiação *in vivo*, *in situ* nem *in vitro*. Já em doses de 500 Gy, independente da umidade, ocorre graves danos aos componentes orgânicos das estruturas dentais como na matriz de colágeno, nos processos odontoblastos etc., e, conseqüentemente, a perda de vitalidade do dente deve ser considerada. Como as áreas da dentina testadas estavam encobertas pelo esmalte é improvável que as circunstâncias intraorais tenham interferido nos resultados. O mais provável é que efeitos radiogênicos diretos tenham causado um aumento na rigidez mecânica da dentina e do esmalte, como foi detectado.

Em revisão da literatura sobre os danos da radiação à dentição humana, Kielbassa et al (2006) focalizam-se especialmente nos tecidos duros dentais e nas cáries de radiação. Considera a deterioração de dente pela cárie pós-irradiação como um efeito predominantemente indireto, causado principalmente por diversos efeitos colaterais relacionados à radiação, em especial a redução da taxa de fluxo salivar. Define como as localizações preferenciais das lesões de cárie de irradiação as superfícies lisas – vestibulares e linguais, incisais e bordos oclusais dos dentes, regiões estas de menor incidência de lesões cariosas em pacientes não

irradiados. A região dental mais atingida é a cervical, afetando, inclusive, os dentes anteriores mandibulares, que são notadamente os mais resistentes a cáries em população não irradiada. Esta parece ser consequência da impossibilidade da constante limpeza mecânica pelo fluxo contínuo de saliva, resultado dos danos da radiação às glândulas salivares. As lesões cariosas progridem rapidamente, circundando a área cervical (colo dental) do dente, numa indicação que essa região parece ser especialmente inclinada a sofrer o processo de cárie.

Ainda nessa mesma revisão da literatura, Kielbassa et al (2006) não encontraram nenhum trabalho que demonstrasse haver alguma diferença microscópica entre lesões iniciais da cárie de radiação e lesões iniciais em pacientes saudáveis. Esta similaridade entre as lesões cariosas é verdadeira para as características histológicas (tanto para o esmalte quanto para a dentina) e também para as reações iniciais de desmineralização e remineralização clínica.

Em estudo avaliando a influência da radiação (dose de 60 Gy fracionada em 2 Gy diários) na força de adesão de quatro sistemas adesivos dentinários, Gernhardt et al (2001) concluíram não haver diferença significativa entre as amostras que sofreram irradiação e as não irradiadas. Mesmo que a radiação provoque pequenas mudanças na dureza, na estrutura cristalina e na matriz de colágeno, como havia demonstrado em seu estudo anterior (KIELBASSA et al., 1997), ela obviamente não influencia na resistência da união dos agentes adesivos de dentina. Dessa forma, recomendam o uso de técnicas adesivas para restaurar lesões de cárie em pacientes irradiados sem que haja necessidade de alteração do protocolo.

Já Vieira (2006), em experimento em que aplicou variadas doses de radiação (0,25 Gy, 0,50 Gy, 0,75 Gy e 1 Gy) também em quatro diferentes materiais restauradores, observaram conclusivamente que todos os materiais restauradores sofreram alterações químicas, mesmo quando expostos a pequenas doses de radiação ionizante.

Outro importante estudo sobre os efeitos da irradiação na superfície de dentina, produzidos por *laser* Er: YAG no preparo do dente para o uso de materiais restauradores resinosos, foi feito por Soares et al (2007). Eles ressaltam a grande necessidade de conhecimentos sobre os componentes orgânicos da dentina, especialmente das fibras colágenas, pois são estas que, atualmente, desempenham importante papel na adesão dos materiais resinosos. Estes conhecimentos, sobre as características químicas da superfície da dentina após radiação, que são tão escassos, são imprescindíveis para o desenvolvimento de materiais que são capazes de interagir

adequadamente com a superfície irradiada, formando assim um novo padrão de interação para a união dos materiais resinosos com os tecidos dentais irradiados, na reconstituição dos dentes danificados pela radioterapia, quando do tratamento do CCP.

2.5 ESPECTROSCOPIA RAMAN E SEU USO PARA A REALIZAÇÃO DE MEDIDAS ÓPTICAS

O fenômeno conhecido como efeito Raman foi descrito pelo físico indiano Chandrasekhara Venkata Raman, no ano de 1928, quando ele e seu discípulo Krishnan publicaram o famoso artigo na revista *Nature*, descrevendo este novo tipo de radiação secundária. Isso rendeu ao Raman a obtenção do prêmio Nobel de física em 1930.

O espalhamento Raman, determinado prioritariamente pela estrutura molecular, é extremamente sensível à sua simetria e excelente para determinar vibrações moleculares. A espectrometria Raman é uma técnica fotônica de alta resolução que proporciona em poucos segundos informações química e estrutural de quase todos os materiais ou compostos orgânicos e/ou inorgânicos, permitindo sua identificação (RIBEIRO et al., 2001; SCHULZE et al., 2004; TSUDA; ARENDS, 1997).

Tanto a espectroscopia Raman quanto a espectrometria infravermelho (IR) são uma forma de espectroscopia vibracional. No entanto, considerando que as bandas IR surgem a partir de uma mudança no momento dipolo de uma molécula, as bandas Raman surgem a partir de uma mudança na polarizabilidade da molécula. Em muitos casos, transições que são permitidas em Raman são proibidas em IR, portanto, essas técnicas são muitas vezes complementares.

2.5.1 Descrição física do efeito Raman

Quando um feixe de luz monocromático é aplicado sobre uma amostra, fótons são absorvidos pelo material e espalhados. A grande maioria desses fótons espalhados tem exatamente o mesmo comprimento de onda que os fótons incidentes e são conhecidos como espalhamento elástico de Rayleigh; mas uma parcela minúscula (cerca de 1 em 10^7) dessa radiação espalhada apresenta comprimento de onda

diferente da incidente. Estes fótons com comprimentos de onda ligeiramente diferentes dos incidentes são gerados pelo espalhamento inelástico Raman. Aproximadamente 99,999% de todos os fótons incidentes em Raman espontâneo são espalhamento Rayleigh. Esse tipo de sinal é inútil para finalidades práticas da caracterização molecular. Somente aproximadamente 0,001% da luz incidente produz o sinal inelástico de Raman (LOBO; MARTIN; MARTINHO, 2005; TSUDA; ARENDS, 1997).

Numericamente, a diferença de energia entre os níveis vibracionais inicial e final, $\bar{\nu}$, ou deslocamento Raman em números de onda (cm^{-1}), é calculada através da equação 2.3, em que $\lambda_{\text{incidente}}$ e $\lambda_{\text{espalhado}}$ são os comprimentos de onda (em cm) dos fótons incidentes e fótons Raman espalhados, respectivamente.

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda_{\text{incidente}}} - \frac{1}{\lambda_{\text{espalhado}}} \quad (2.3)$$

A variação da energia vibracional devida ao efeito Raman é dissipada como calor, mas devido à baixa intensidade de espalhamento Raman, não há aumento mensurável na temperatura do material analisado.

Essas novas frequências, características dos níveis de energia das moléculas são independentes da frequência da radiação incidente. A variação de frequência Raman é equivalente à variação de energia vibracional da molécula durante o processo.

Os íons e átomos ligados quimicamente para formar moléculas e redes cristalinas apresentam constantes movimentos vibracionais e rotacionais. Estas oscilações ocorrem em frequências bem determinadas em função da massa e do tipo de ligação química na molécula, que interferem no comportamento dinâmico das ligações existentes. Cada um dos movimentos vibracionais e rotacionais da molécula corresponderá a um determinado valor de energia molecular.

A maioria dos fótons espalhados Raman é deslocada para maiores comprimentos de onda (deslocamento Stokes), mas uma pequena porção é deslocada para comprimentos de onda mais curtos (deslocamentos anti-Stokes). A figura 2.14 mostra um diagrama de espalhamento de Rayleigh, espalhamento Raman Stokes e espalhamento Raman anti-Stokes.

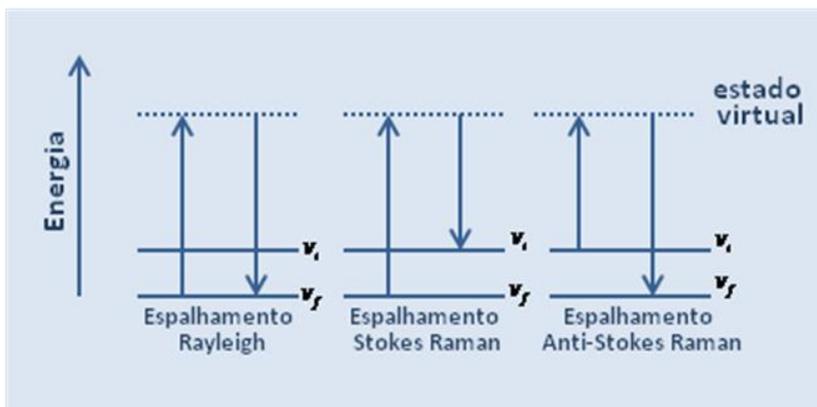


Figura 2.14 – Diagrama do nível de energia de espalhamento Rayleigh, espalhamento Raman Stokes e espalhamento Raman anti-Stokes.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Em cada caso, o fóton incidente excita um elétron para um maior nível virtual de energia (ou estado virtual) e, em seguida, o elétron volta para um nível mais baixo, emitindo um fóton espalhado. No espalhamento Rayleigh, o elétron decai de volta para o mesmo nível do qual começou. Em ambos os tipos de Espalhamento Raman, Stokes e anti-Stokes, o elétron decai para um nível diferente daquele em que ele começou. Dispersão Raman Stokes ocorre quando o nível de energia final é menor que o nível inicial, enquanto a dispersão Raman anti-Stokes ocorre quando o nível de energia final é maior que o nível inicial.

Espalhamento Stokes é muito mais comum do que espalhamento anti-Stokes porque em temperatura ambiente, de acordo com a distribuição de Boltzmann, 99% das moléculas encontram-se em seu estado vibracional de menor energia. Apenas Stokes Raman é comumente usada em espectroscopia.

Assim, o efeito Raman surge quando a radiação incidente em uma molécula interage com o dipolo elétrico da mesma. Nesse caso, o momento de dipolo da molécula pode ser gerado ou modificado pelo campo elétrico da radiação. Classicamente, quanto maior o campo, maior o momento de dipolo, segundo a expressão:

$$\mathbf{P} = \epsilon \mathbf{E}$$

onde \mathbf{P} é o vetor momento de dipolo elétrico induzido, \mathbf{E} é o vetor campo elétrico da radiação incidente e ε é a polarizabilidade da molécula e mede a disposição da molécula a ter momento de dipolo. Em geral, a polarizabilidade depende da coordenada generalizada q de um determinado modo normal de vibração. Portanto, a polarizabilidade ε pode ser descrita por um desenvolvimento em serie de Taylor da coordenada q , ou seja,

$$\varepsilon = \varepsilon_0 + \left(\frac{\partial \varepsilon}{\partial q} \right)_0 \cdot q + \dots \quad 2.5$$

Supondo que a coordenada q e o campo \mathbf{E} sejam descritos por:

$$q = q_0 \cos(2\pi\nu t) \quad \text{e} \quad E = E_0 \cos(2\pi\nu_0 t)$$

onde ν é a frequência do modo de vibração e ν_0 a frequência da radiação incidente, o momento de dipolo induzido será:

$$P = \varepsilon_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{\partial \varepsilon}{\partial q} \right)_0 q_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu t) \quad 2.6$$

Os termos de ordem maior podem ser desprezados se considerarmos pequenas oscilações. Usando a igualdade trigonométrica $2\cos(a)\cos(b) = \cos(a+b) + \cos(a-b)$, temos:

$$P = \varepsilon_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \varepsilon}{\partial q} \right)_0 q_0 E_0 \{ \cos 2\pi[(\nu_0 + \nu)t] + \cos 2\pi[(\nu_0 - \nu)t] \} \quad 2.7$$

O primeiro termo contém somente a frequência da radiação incidente que corresponde ao espalhamento elástico (espalhamento Rayleigh). No segundo termo aparecem as frequências que dão origem ao espalhamento Raman (espalhamento inelástico), sendo $(\nu_0 - \nu)$ a componente do espalhamento Raman Stokes e a componente de frequência $(\nu_0 + \nu)$ correspondente ao espalhamento Raman anti-Stokes.

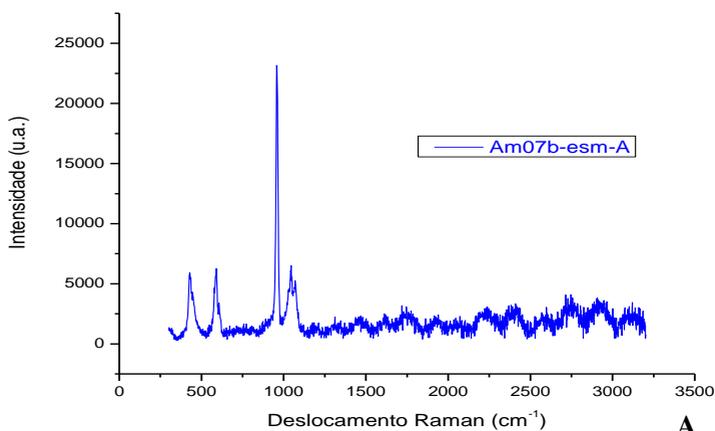
Para que os dois últimos termos tenham contribuição, ou seja, para que o espalhamento Raman ocorra é necessário que haja variação na polarizabilidade da molécula

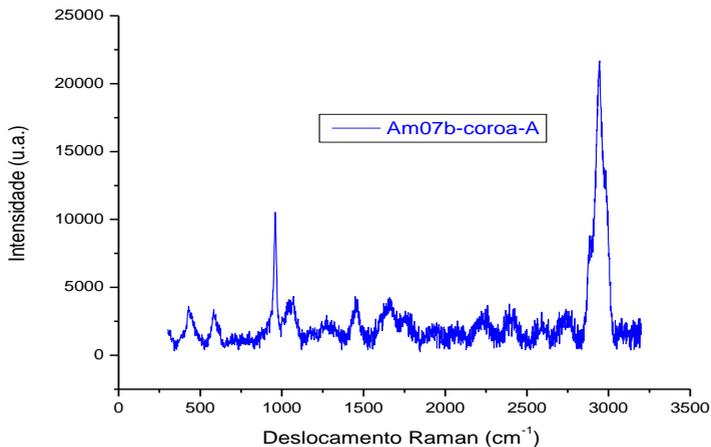
Como mencionado acima, Raman é uma forma de medida de níveis vibracionais moleculares, em que os sinais Raman são emitidos

sob a forma de dispersão da luz, podendo ser observados em todas as direções quando as moléculas são excitadas pela luz polarizada de um *laser* (TSUDA; ARENDS, 1997). Isso significa que estas energias de transições surgem das vibrações moleculares. Portanto, essas vibrações envolvem a identificação de grupos funcionais, quando as energias das transições são plotadas como um espectro, identificando-as (GILCHRIST et al., 2007).

2.5.2 Espectro Raman

O espectro Raman é geralmente mostrado em forma de um gráfico de intensidade do sinal Raman em função do deslocamento Raman, que é a diferença entre o número de ondas da luz incidente e espalhada (eq. 2.3). O deslocamento Raman é independente da frequência da radiação incidente e representa a diferença de energia entre dois níveis vibracionais da molécula em questão. Cada molécula ou ligação química tem sua assinatura Raman distinta. Normalmente apenas a região Stokes é usada (o espectro anti-Stokes é idêntico no padrão, mas muito menos intenso) (LOBO; MARTIN; MARTINHO, 2005). A figura 2.15 apresenta dois espectros Raman de duas diferentes regiões dental – em A, espectro do esmalte e em B, espectro da dentina coronária. Nota-se que cada um tem um conjunto característico de picos que lhes permitem ser distinguidos dos outros.





A

Figura 2.15 – Espectro Raman de duas regiões dentária.

A – Espectro Raman do esmalte da amostra 07b. B – Espectro Raman da dentina coronária da amostra 07b.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Se uma vibração molecular não mudar significativamente a polarizabilidade, os derivados terão a polarizabilidade próxima de zero, e a intensidade da banda Raman será baixa. As vibrações de uma molécula altamente polar, como a ligação OH, são geralmente fracas, pois um campo elétrico externo não pode induzir uma mudança grande no momento de dipolo, e não irá causar mudanças esticando ou flexionando a ligação. Típico espalhamento Raman forte é dado pelas ligações duplas entre carbono-carbono. A nuvem de elétrons π da ligação dupla é facilmente distorcida por um campo elétrico externo. Flexionar ou esticar as ligações causa mudanças substanciais na distribuição da densidade de elétrons e provoca uma grande mudança no momento de dipolo induzido.

Características dos grupos funcionais dão origem a bandas vibracionais com aproximadamente a mesma frequência, independentemente da molécula em que se encontram. Moléculas diferentes têm diferentes estados vibracionais, que podem ser distinguidos com essa técnica (SOARES et al., 2007).

Entretanto, as atribuições das bandas em amostras biológicas tendem a ser controversas devido à dificuldade de extrapolação dos dados das apatitas sintéticas para as apatitas biológicas. Intensidades, larguras e as posições das bandas são altamente dependentes do ambiente específico dos íons, que são influenciados tanto pelos

constituintes inorgânicos como pelos orgânicos e pelas matrizes celulares (WENTRUP-BYRNE et al., 1997).

Assim, as intensidades dos picos dão informações sobre a concentração de grupos específicos dentro da molécula, como a hidroxiapatita, sendo que a largura da banda é uma medida do grau de ordenação atômica dentro da célula unitária, com os picos de maior largura refletindo um menor grau de ordenação (GILCHRIST, 2007; PICHARDO et al., 2005).

2.5.3 Vantagens da espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é útil para a análise química por várias razões: apresenta uma alta especificidade, pois detecta vibrações fundamentais, sendo que as bandas Raman têm uma boa relação sinal-ruído e não são sobrepostas. Isso permite que um espectro Raman possa ser usado para tudo, como “Impressões digitais” de amostras; é compatível com sistemas aquosos permitindo adquirir bons espectros de espécies em solução aquosa; não requer preparação especial da amostra, posto que nenhum contato com a amostra é necessária porque Raman envolve apenas a iluminação da amostra com um *laser* e a coleta dos fótons espalhados. Isso faz com que a espectroscopia Raman seja “não destrutiva”. Outra vantagem é que a escala de tempo para a medida é curta, podendo ser usada para monitorar reações químicas em tempo real (XU et al., 2009; TSUDA; ARENDS, 1997).

2.5.4 Raman e as estruturas dentais

A literatura mostra que a espectroscopia Raman é uma técnica utilizada para a análise molecular dos tecidos dentais capaz de caracterizar a variabilidade da distribuição espacial de compostos orgânicos e inorgânicos, revelando sua característica, composição e estrutura química, sem causar danos à amostra. Usando essa técnica é possível detectar moléculas de compostos específicos dentro de uma amostra, no ar ou na água, em temperatura e pressão ambiente, úmida ou seca, sem destruição do material (SOARES et al., 2007a; SOARES et al., 2007b).

Há algum tempo ela vem sendo empregada nas pesquisas da área odontológica como mostra Tsuda e Arends (1997) em revisão sobre o uso da espectrometria Raman nas pesquisas dentais. Destacaram e valorizaram seu emprego pela possibilidade, inclusive, de uma amostra dental poder ser examinada várias vezes sem que ocorresse danos à amostra. Isso tem tornando a técnica Raman muito adequada até mesmo para o estudo da reparação de lesões de cárie pela sua remineralização.

A característica espectral dos vários Ramans dos tecidos dentais tem sido investigada quantitativamente pela posição do pico das bandas, que é indicativa das características de composição do material que afetam as energias de ligação, e pela análise qualitativa sobre as mudanças evidentes de largura das bandas, sendo a largura da banda uma medida do grau de ordenamento atômico da célula unitária, onde os picos mais amplos refletem o menor grau de ordenamento (GILCHRIST, 2007).

Para análise da **porção inorgânica** dos tecidos dentais mineralizados, as bandas do carbonato e do fosfato têm sido medidas. Teoricamente, há quatro modos vibracionais para os íons fosfatos visíveis no espectro Raman que se posicionam nas seguintes faixas de deslocamento Raman:

- a banda ν_4 do grupo fosfato está presente na região entre 570 e 600 cm^{-1} ;

- a banda ν_3 do grupo fosfato está presente na região entre 1026 e 1080 cm^{-1} ;

- a banda ν_2 do grupo fosfato está presente na região entre 420 e 450 cm^{-1} ;

- a banda ν_1 do grupo fosfato está presente na região entre 930 e 990 cm^{-1} , é indicativo do estiramento simétrico do P–O, que representa a energia vibracional associado à ligação entre fosfato e oxigênio na molécula de hidroxiapatita. (GILCHRIST et al, 2007).

Os modos ν_1 vibracionais para os íons carbonatos (CO_3^{-2}) visíveis no espectro Raman ocorrem em competição com a banda ν_3 do fosfato. Os picos para o carbonato tipo A e tipo B têm sido visualizados no espectro Raman em:

- a banda correspondente ao carbonato tipo A, com pico em 1046 cm^{-1} ;

- e a banda correspondente ao carbonato tipo B com pico em 1070 cm^{-1} , que é encontrado em maior quantidade, tanto em dentina quanto em esmalte.

A habilidade em evidenciar essas duas bandas consistentes confirma a alta sensibilidade dessa técnica (LOBO et al., 2004).

Para a análise da **porção orgânica** dos tecidos dentais mineralizados, representantes do colágeno e proteínas, as seguintes regiões têm sido medidas:

- banda entre 1246 – 1270 cm^{-1} , atribuída à vibração do grupo N-H (amida III);

- banda entre 1403 - 1492 cm^{-1} , atribuída à vibração do grupo $\text{CH}_3 - \text{CH}_2$;

- banda entre 1650 - 1690 cm^{-1} , atribuída à vibração do grupo C=O (amida I) – Colágeno tipo I;

- banda entre 2900 e 3039 cm^{-1} , atribuída à vibração do modo de alongamento do C–H. Esta banda, correspondente ao estiramento da hidroxila, é bastante relatada como a principal banda na caracterização da matriz orgânica (SOARES et al., 2007a; SCHULZE et al., 2004; TAGLIAFERRO et al., 2009; TSUDA; RUBEN; ARENDS, 1996; SAKOOLNAMARKA et al., 2005; GILCHRIST, 2007).

Assim, através do estudo dos modos de vibração dos grupos PO_4^- , OH^- , HPO_4^{2-} e CO_3^{2-} , presentes na hidroxiapatita, obtêm-se informações complementares sobre esses minerais, sendo que as intensidades relativas das bandas nos espectros normalizados têm levado à estimativa quantitativa desses componentes na molécula (SOARES et al., 2007b).

Embora essa técnica continue sendo potencialmente útil para o acompanhamento dos processos químicos que ocorrem nas estruturas minerais dentais durante os mais diversificados experimentos, um dos inconvenientes apresentados pela espectroscopia Raman, na análise dos materiais orgânicos contidos no dente, é a formação de espectros de fluorescência. Estes se apresentam devido à matéria orgânica que muitas vezes podem dominar os sinais Raman muitos fracos após a excitação pelo *laser*, principalmente com os de maior energia. Mesmo assim, o uso de energias mais altas do que os *lasers* na faixa do infravermelho, como o *laser* verde, vêm sendo usado para a obtenção de espectro Raman com suficiente informação para análise da hidroxiapatita orgânica contida no dente (SOARES et al., 2007b; HE; SWAIN, 2009; LOBO et al., 2004; TSUDA; ARENDS, 1994; TSUDA; RUBEN; ARENDS, 1996; SAKOOLNAMARKA et al, 2005).

Na busca por análises de caracterização mais sensíveis para o esclarecimento das alterações na estrutura dental pelas diferentes formas de irradiação, que dão ênfase ao aspecto químico, a espectroscopia Raman tem-se mostrado uma técnica rica em informações, altamente

seletiva para a investigação de espécies moleculares, podendo ser aplicada a quase todas as biomoléculas (TAGLIAFERRO et al., 2009).

2.6 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO FOTOACÚSTICA – CONFIGURAÇÃO CÉLULA ABERTA (OPC)

O descobridor do efeito fotoacústico foi o físico norte-americano de origem inglesa, Alexander Graham Bell (1847-1922), inventor do telefone, em uma descoberta acidental. A descoberta aconteceu em 1880, mas, durante quase um século, a possibilidade de converter luz em som foi encarada como uma mera curiosidade. Somente na década de 1930, o efeito começou a despertar interesse científico, quando se percebeu que poderia ser usado para análise de gases. Assim nascia a espectroscopia fotoacústica, uma técnica que ganhou ainda mais impulso a partir da década de 70, com o desenvolvimento dos *lasers* e o progresso no campo da eletrônica (LÓPEZ et al., 1999).

Os experimentos relacionados às chamadas técnicas fotoacústicas foram aplicados para uma grande escala de problemas. Uma das aplicações principais dessas técnicas está na caracterização térmica de materiais que mede, particularmente, o coeficiente de difusão térmica, a efusividade térmica e o coeficiente de expansão térmica linear. Relacionado com medidas do coeficiente de difusão térmica, há uma variedade de metodologias fotoacústicas para realizar essa caracterização térmica (LÓPEZ et al., 1999).

A espectroscopia fotoacústica (PAS, do inglês *photoacoustic spectroscopy*) está baseada em um efeito de absorção. O efeito fotoacústico ocorre quando incidimos luz modulada em um material encerrado em uma célula fotoacústica com um microfone do tipo eletreto. Parte da luz é absorvida em uma fina camada do material, promovendo excitação eletrônica. A desexcitação eletrônica ocorre através de processos não radiativos gerando calor (conversão de luz em calor). A onda térmica gerada propaga-se através do restante do material e, ao penetrar na célula fotoacústica, aquece o gás presente promovendo uma variação de pressão no seu interior. Devido ao fato de que a luz é modulada, a variação de pressão flutua na mesma frequência de modulação da luz. Essa variação de pressão é detectada pelo microfone existente no interior da célula e convertida em um sinal elétrico. Esse efeito constitui-se a base da espectroscopia fotoacústica. Cada material

apresenta um espectro fotoacústico único, como se fosse uma impressão digital (NAKAMURA, 2007).

A figura 2.16 mostra, de forma esquemática, a montagem de uma estação PAS, versão célula fotoacústica aberta, a qual pode ser descrita como segue: um feixe de *laser* vermelho, proveniente de uma fonte monocromática, é modulado usando um modulador mecânico (comumente chamado de *chopper*) que será incidido sobre a superfície da amostra que está colada diretamente sobre a entrada do microfone. A variação de pressão no interior da câmara do microfone é convertida para um sinal elétrico analógico que é enviado para um amplificador síncrono (comumente chamado de *lock-in*). O modulador mecânico também está conectado ao *lock-in*, permitindo que este último leia a frequência de modulação do feixe de *laser*. Por último, o *lock-in* está conectado a um microcomputador, permitindo que este mostre o valor do sinal elétrico e sua fase (NAKAMURA, 2007).

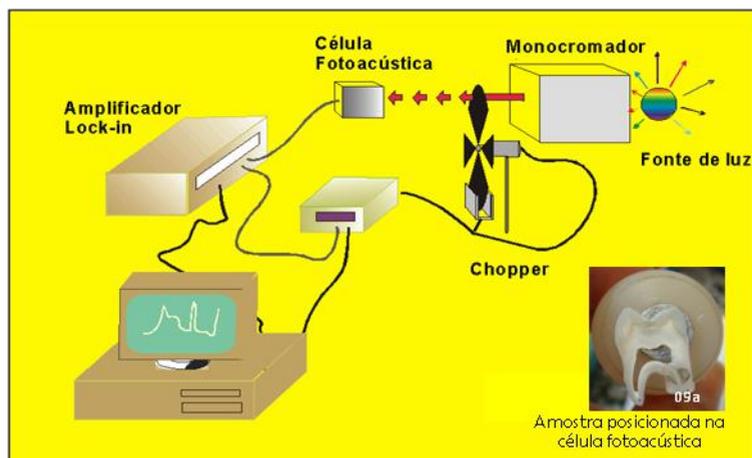


Figura 2.16 – Montagem típica de um espectrômetro fotoacústico.
Fonte: NAKAMURA (2007).

Para uma amostra porosa e termicamente espessa, existem dois processos que podem contribuir para o sinal PAS:

(1) termalização não radioativa no interior da banda de valência: quando elétrons fotoexcitados na banda de valência decaem, geram fônons que são espalhados pelos átomos da estrutura presente. A contribuição desse processo de espalhamento para o sinal PAS diminui

de forma exponencial com o aumento da frequência de modulação. Segue a expressão abaixo:

$$S = (A/f) \exp(-a\sqrt{f}), \quad (2.8)$$

Onde $a = l_s(\pi/\alpha_s)^{1/2}$, f é a frequência de modulação, l_s é a espessura da amostra e α_s é a sua difusividade térmica. A fase do sinal PAS apresenta uma dependência com a frequência de modulação do tipo

$$\Phi_{ph} = \frac{\pi}{2} - af^{1/2}. \quad (2.9)$$

Quando esse processo está presente, ele ocorre na faixa de baixas frequências.

(2) flexão termoelástica: quando gradientes de temperatura são gerados na amostra, estes dão origem à flexão termoelástica ou flambagem da amostra. Assim, esse mecanismo passa a ser a principal contribuição para o sinal PAS. Essa contribuição mostra uma dependência com a frequência de modulação do tipo $f^{-1.0}$. A fase do sinal PAS mostra uma dependência com a frequência de modulação do tipo

$$\Phi_{ph} = \phi_0 + \tan^{-1} \left[\frac{1}{a\sqrt{f} - 1} \right], \quad (3.0)$$

onde a constante a é a mesma já definida acima. A difusividade térmica α_s pode ser determinada ajustando a expressão teórica acima aos dados da fase, medidos experimentalmente.

Na prática, a contribuição de cada processo para a variação da pressão na célula fotoacústica pode ser facilmente encontrada seguindo o seguinte procedimento: (i) fazendo gráficos de $\ln S$ contra $f^{1/2}$ e Φ_{ph} (em radianos) contra $f^{1/2}$. O valor de a é o coeficiente angular da reta ajustando os dados na região de baixas frequências de modulação, sendo que os valores obtidos devem ser iguais no gráfico; (ii) fazendo o gráfico $\log S$ contra $\log f$, o valor do coeficiente angular da reta

ajustando os dados na região de altas frequências de modulação deve ser “-1”. Esse procedimento pode ser facilmente implementado através do software Origin.

Uma nova metodologia fotoacústica para medir a difusividade térmica dos materiais foi proposta por Balderas-López et al (1999). Esse método baseia-se na identificação das descontinuidades na lag fase fotoacústica, previsto pelo modelo de Rosencwaig. Neste modelo não há a necessidade de ajustar um conjunto de dados experimentais. Segundo esses autores, o sinal fotoacústico completo para uma amostra opticamente opaco é dado pela expressão

$$S = W \frac{1}{\sqrt{[\cos(x) \sinh(x)]^2 + [\sin(x) + \cosh(x)]^2}} \exp \left[i \left(-\frac{\pi}{2} - \arctan \left(\frac{\tan(x)}{\tanh(x)} \right) \right) \right] \quad (3.1)$$

$$\text{Onde } W = \frac{Y \sqrt{\alpha_g \alpha_s}}{2\pi f}, \quad x = \sqrt{\frac{f}{f_c}} \quad \text{e } f_c = \frac{\alpha_s}{\pi l_s^2}.$$

Aqui, α_g e f_c são, respectivamente, a difusividade térmica do gás no interior da câmara fotoacústica e a frequência característica que determina a frequência de modulação, onde há uma transição do regime termicamente fino ($f < f_c$) para o regime termicamente espesso ($f > f_c$).

O lag fase do sinal fotoacústico tem pontos de descontinuidade devido à dependência da $\tan(x)$, que ocorre em frequências dadas pela relação

$$f = (2n + 1)^2 \frac{\pi^2}{4} f_c \quad (3.2)$$

onde n é um número inteiro. Essa relação mostra que os pontos de descontinuidade estão intimamente relacionados com a frequência de corte. Por conseguinte, a primeira descontinuidade nos valores da fase lag fotoacústica corresponde a $n = 0$, que, substituído na equação 2.6, permite obter a correspondente frequência de corte. A partir deste parâmetro, o coeficiente de difusividade térmica pode ser conhecido.

A difusividade térmica é uma propriedade física que mede a razão do fluxo de calor através de um meio, e a importância desta grandeza física se deve ao fato de que, igual ao coeficiente de absorção óptico, é única para cada material e extremamente sensível à composição e estrutura dos materiais. O valor da difusividade térmica fornece uma medida de quão rapidamente o calor (m^2/s) propaga-se através do material. Por isso, a medida de difusividade térmica tem sido utilizada para avaliar as diferentes estruturas dentais e os diferentes materiais, com o objetivo de aprovar ou sugerir aplicações e melhorias nas propriedades físicas dos materiais restauradores odontológicos (RODRIGUEZ et al., 2000).

O uso da técnica de espectroscopia de absorção fotoacústica (PAS) para medir a difusividade térmica de amostras foi proposto por diversos autores, com base na medida da retardação da fase do sinal fotoacústico, em função da frequência de modulação. Esse método tem diversas vantagens, tais como possibilitar o estudo de amostras muito finas, a não necessidade de contato entre a amostra, a fonte de calor e o dissipador e a eliminação de termopar para monitorar a temperatura como uma função do tempo (PANAS et al, 2003; PICHARDO et al., 2005; EL-BROLOSSY et al., 2005).

Há mais de 20 anos, a técnica PAS vem sendo usada como uma ferramenta de trabalho em ciências biológica e biomédica. Na odontologia, essa técnica tem sido bastante empregada para a caracterização térmica e termo-mecânica de dentes e de seus materiais restauradores. Esses estudos sobre a difusão do calor em tecidos dentais, ossos e em metais de uso biomédico, usando a técnica PAS em uma configuração de calor transiente, têm sido executados para obter valores da difusividade térmica dos materiais e tecidos analisados (COLOIANO et al., 2005; PEÑA et al., 2000).

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 SELEÇÃO DAS AMOSTRAS

Neste estudo foram utilizados 38 terceiros molares humanos inclusos e íntegros, cirurgicamente extraídos e livres de anomalias de desenvolvimento e de cárie. Os procedimentos de doação foram conduzidos de acordo com o protocolo de consentimento livre e informado (ANEXO A), que foi previamente submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CEPE). A aprovação do projeto recebeu o certificado do CEPE no dia 12/01/2009, sob o número 372.

A extração dental era parte do tratamento odontológico do paciente e nenhum paciente doador foi previamente submetido a qualquer tratamento radioterápico. Os dentes foram obtidos na Disciplina de Cirurgia I, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, no Centro de Especialidades Odontológicas, localizado no Centro de Ciências da UFSC; e no Curso de Residência em Cirurgia Buco-Maxilo-Facial, no Hospital Universitário da UFSC.

Todos os dentes foram imersos por 30 minutos em uma solução de NaCl a 0,5%, após a exodontia, para desinfecção. A superfície externa foi limpa com curetas Gracey nº 7-8 (Hu-Friedy) para remoção dos tecidos moles aderidos ao dente e complementada com limpeza ultrassônica (Maxiclean 1450, Merse – Campinas - SP) em água destilada por 5 minutos. Uma seleção visual prévia, com lupa 2x de aumento, foi feita para eliminar os dentes que não se adequavam ao perfil exigido na pesquisa (SOARES et al., 2007a).

Os dentes que se mostravam clinicamente adequados foram colocados dentro de potes individuais, devidamente etiquetados, de forma a permitir a identificação da sua origem. O número constante na etiqueta identificava o número da ficha do paciente, na qual constavam dados complementares como idade, sexo e quantidade de dentes doados. A letra subsequente ao número estava relacionada a quantidade de dentes do mesmo paciente.

Os 38 dentes utilizados neste estudo foram doados por 27 pacientes com idade entre 15 e 28 anos, de ambos os sexos.

Os dentes foram imersos em água mineral natural, que era renovada em dias intermitentes, e armazenados sob refrigeração a 4°C

para inibir o crescimento microbiano até a conclusão desta pesquisa. A imersão e troca em dias alternados em água foi com o intuito de impedir a perda de minerais dos dentes e a manutenção integral de suas características.

Os dentes foram previamente selecionados por inspeção visual e foram também radiografados para confirmar que estavam livres de alterações estruturais interna. O aparelho de raios X intrabucal utilizado foi o modelo Seletronic Digital P220 (Dabi Atlante – Brasil) e as radiografias foram processadas conforme as especificações do fabricante na processadora automática Revell – Brasil.

3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

3.2.1 Amostras para corte

Do total de dentes selecionados, 20 foram seccionados para serem analisados pela Espectroscopia Fotoacústica e Raman.

O equipamento utilizado para os cortes foi a Isomet Low Speed Saw (BUEHLER GmbH, Dusseldorf, Alemanha), com disco de diamante de espessura de 0,3 mm e 10,2 cm de diâmetro (Diamond Wafering Blade – series 15HC Diamond N^o 11 – 4244 – BUEHLER – Alemanha), sob constante refrigeração e velocidade nível 3, sem peso. A utilização desses fatores foi em acordo com estudo piloto para obtenção de fatias dentais íntegros e com espessura em torno de 300 µm.

Para a adequada fixação do dente ao equipamento de corte, a extremidade radicular de todos os vinte dentes foi aderida a uma plataforma retangular de resina epóxi, conforme pode ser visto na figura 3.1.



Figura 3.1 – Amostra 21 fixada no equipamento pela base resinosa - primeiro corte central.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Dois cortes foram feitos na parte central do dente (sulco principal), paralelos entre si e ao longo eixo do dente, no sentido mésio-distal. Isso resultou em um espécime central e mais dois espécimes formados pela porção bucal e vestibular do dente (Figura 3.2). Os espécimes centrais foram medidos com um espessômetro e um micrômetro padrão (Mitutoyo), e suas espessuras variaram entre 0,22 mm a 0,81 mm, com média de 0,34 mm. Essas amostras foram caracterizadas pelo PAS em três pontos que estão definidos na seção 3.2.4, neste mesmo capítulo. Os espécimes vestibulares foram caracterizados pela espectroscopia Raman, e os espécimes bucais não foram submetidos a nenhuma forma de caracterização, mas eram indispensáveis para manterem o mais próximo possível as dimensões originais dos dentes, quando as três porções fossem unidas para serem irradiadas.

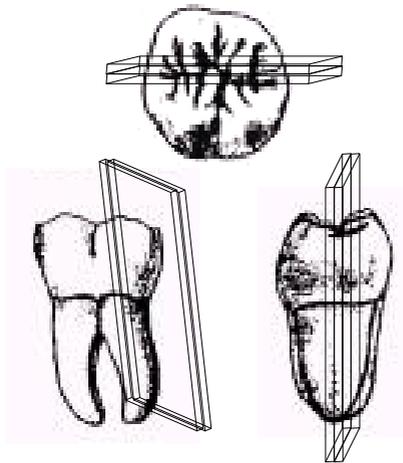


Figura 3.2 – Esquema dos cortes dentais.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os 20 dentes, com suas respectivas porções – central, vestibular e lingual – foram divididos em dois grupos, com cada grupo contendo 10 dentes. Tentou-se, dentro do possível, que os dois grupos contivessem representantes dentais equivalentes em idade e grau de formação dental, e que se houvesse mais de um dente do mesmo paciente, que estes fossem distribuídos nos dois grupos.

Os dentes do primeiro grupo foram irradiados com uma única dose de 70 Gy fornecida pelo acelerador linear. Esse grupo foi identificado como Grupo CDU (dentes **C**ortados e **D**expostos à **D**ose **Ú**nica). Os dentes do segundo grupo foram irradiados com uma dose total também de 70 Gy fornecida pelo acelerador linear, mas em doses fracionadas de 2 Gy/dia, e foi identificado como Grupo CDF (dentes **C**ortados e **D**expostos à **D**ose **F**racionada). A distribuição dos dentes desgastados por grupo está na tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Distribuição dos dentes cortados por grupos.

GRUPO CDU	03	05	07a	09a	11a	13a	18a	20	25a	27
GRUPO CDF	02b	07b	09b	11b	13b	15	18b	21	23	25b

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.2.2 Amostras para fratura

Os 18 dentes restantes da seleção inicial foram fraturados, na sua porção central, em duas partes, e também divididos em dois grupos. Cada grupo continha nove dentes, que foram identificados como Grupo FDU (dentes **F**ratu**r**ados e expostos à **D**ose **Ú**nica), e Grupo FDF (dentes **F**ratu**r**ados e expostos à **D**ose **F**racionada).

A distribuição dos dentes nos dois grupos seguiu os mesmos critérios utilizados para a formação do grupo CDU e CDF. Os dentes destes grupos foram caracterizados pelo MEV. A distribuição dos dentes fraturados por grupo está na tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Distribuição dos dentes fraturados por grupos.

GRUPO										
FDU	04	12	15a	24	25	26a	34a	39	44a	04
GRUPO										
FDF	15b	28	30	32	34b	35	38	42b	44b	15b

Fonte: Elaborada pelo autor.

Decorrente da necessidade de fraturar dentes molares em seu longo eixo, de forma que as partes fraturadas contivessem as regiões necessárias para as medições objetivadas neste trabalho, foi construído um equipamento para este fim.

3.2.3 Equipamento para fratura

Este trabalho visa tipificar os efeitos da radiação sobre a estrutura dental. Para tal propósito, há que comparar as características estruturais e microestruturais presentes numa estrutura dental irradiada e na “mesma” estrutura, porém não irradiada.

Poder-se-ia considerar o corte longitudinal de um dente visando à obtenção de duas superfícies, sendo que uma seria irradiada e outra serviria de controle para fins de posterior comparação dos efeitos da radiação sobre uma das superfícies em relação à outra. Ocorre que o processo de corte envolve remoção de material e as duas superfícies não seriam réplicas especulares uma da outra.

A estratégia adotada para tal fim consiste em se fraturar longitudinalmente os dentes, procurando obter duas superfícies de

fratura, onde uma é réplica especular da outra. Uma das superfícies é irradiada e a outra superfície de fratura é utilizada como referência (não irradiada).

Todavia, a obtenção de uma fratura plana, sem lascas ou bifurcações, é tarefa não trivial, face à heterogeneidade da estrutura e da microestrutura dental. Adicionalmente, a geometria do dente dificulta tanto o seu apoio quanto a aplicação de um esforço que possibilite a obtenção de uma superfície plana de fratura, devido à dificuldade de aplicação de uma carga homogeneamente distribuída sobre o dente.

Nesse sentido, desenvolveu-se o equipamento ilustrado na figura 3.3, no qual o dente é primeiramente envolvido por uma resina epóxi, sem que entrem em contato direto, e, posteriormente, encapsulado por um tubo de PVC, visando a criação de um formato cilíndrico. São criados sulcos nas laterais do cilindro para que atuem como guias, quando da passagem do cutelo (Figura 3.4).

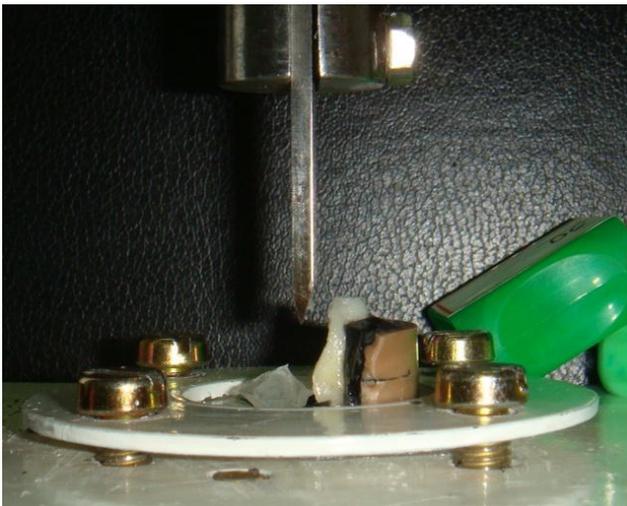


Figura 3.3 – Equipamento utilizado para fraturar os dentes
Fonte: Elaborada pelo autor.



Figura 3.4 – Amostra dental preparada para fratura
Fonte: Elaborada pelo autor.

O cutelo é apoiado sobre o dente, conforme ilustra a figura 3.5. Os pesos são soltos sobre o cutelo e este desloca-se através do dente, criando as duas superfícies de fratura. Tal equipamento possibilitou a obtenção de superfícies de fratura, conforme o desejado (Figura 3.6).

Ambas as partes fraturadas retornaram para seus devidos recipientes. Posteriormente, foram preparadas para uma ir para a análise no MEV e outra para ser irradiada e, depois, também ser analisada no MEV.

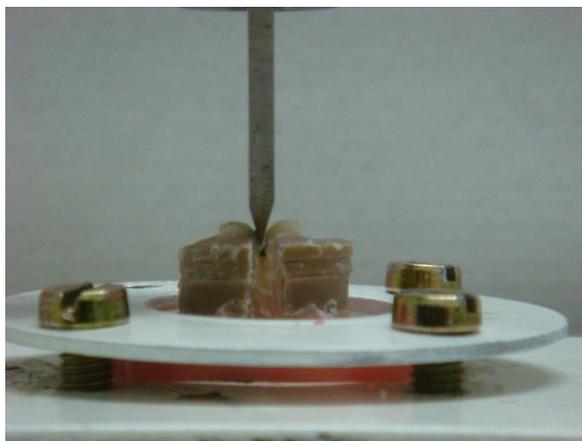


Figura 3.5 – Dente posicionado para fratura
Fonte: Elaborada pelo autor.

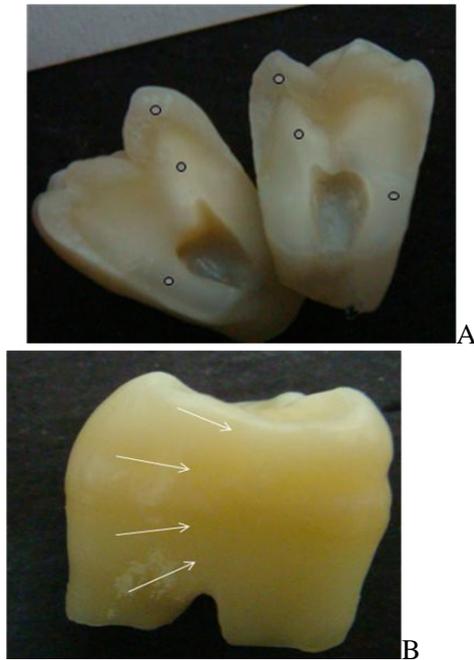


Figura 3.6 – Amostra 38 fraturada em seu longo eixo.

A- Demarcadas as áreas de interesse para a análise no MEV. B – As partes fraturadas são complementares.

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.2.4 Regiões dentais para as medidas

3.2.4.1 Amostras que sofreram cortes

Os espécimes centrais e vestibulares de todas as amostras dos grupos CDU e CDF foram caracterizados em uma região na superfície interna do esmalte e em duas regiões na superfície interna dentinária. A região do esmalte foi localizada na porção central da cúspide. Nas regiões dentinárias uma região foi localizada abaixo de uma cúspide, entre o limite amelodentinário e o corno pulpar, e a outra região foi localizada na dentina cervical (não revestida por esmalte) entre seu limite externo e a cavidade pulpar. Esses locais podem ser mais

claramente entendidos no esquema das figuras 3.6 e 3.7, que utilizam a imagem clínica e a imagem radiográfica para melhor ilustrar a demarcação dessas regiões de medidas. Os locais selecionados para a obtenção das medidas eram os desejados para o estudo comparativo das estruturas dentais.



Figura 3.7 – Demarcação em imagem radiográfica dos pontos analisados.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A amostra central de todos os dentes do grupo CDU e CDF foi caracterizada pelo PAS, nas três áreas demarcadas, antes e após as amostras serem irradiadas. Esses pontos teriam seus exatos correspondentes nos espécimes vestibulares, que seriam caracterizados pelo Raman, antes e após a irradiação da amostra (Figura 3.8). Entendemos, dessa forma, que os pontos analisados no PAS e no Raman, do mesmo dente, teriam suas estruturas e microestruturas praticamente semelhantes, podendo ser consideradas comparáveis.

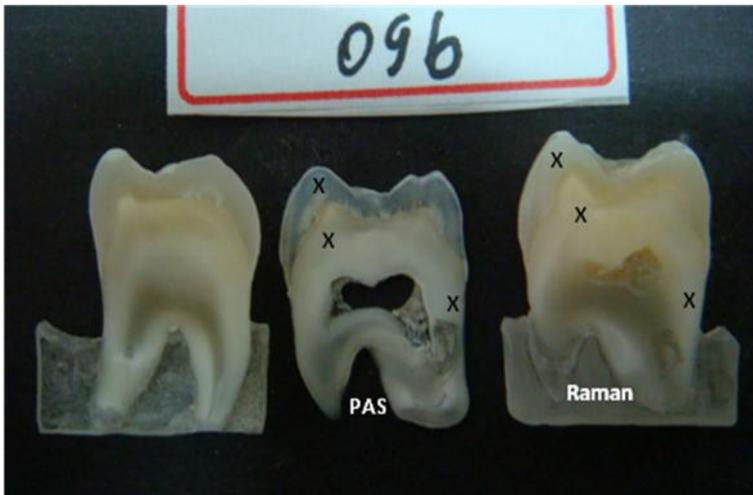


Figura 3.8 – Amostra 09b com suas partes separadas e seus pontos de análises identificados para: PAS (porção central) e Raman (porção vestibular).

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.3.4.2 Amostras que sofreram fratura

Os espécimes linguais e vestibulares de todas as amostras dos grupos FDU e FDF foram caracterizados em regiões equivalentes às amostras dos grupos CDU e CDF. Estas áreas, uma na superfície interna do esmalte e duas na superfície interna dentinária (dentina coronária e dentina cervical), foram analisadas pelo MEV. Os pontos definidos para a análise das duas partes do dente fraturado eram especulares, conforme pode ser visto na figura 3.9 e, portanto, a estrutura e microestrutura nas superfícies das duas porções do dente fraturado foram consideradas análogas.

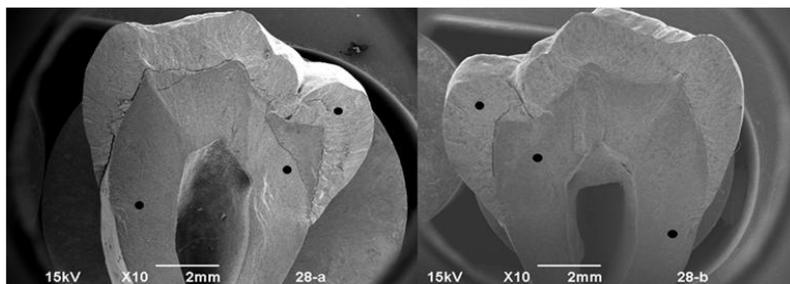


Figura 3.9 – Micrografia das partes 28-a e 28-b - Demarcações das regiões analisadas no MEV.

Fonte: Elaborada pelo autor.

As amostras para serem analisadas pelo MEV necessitam de preparo que as tornam inválidas para serem irradiadas. Assim, uma parte fraturada de cada amostra do grupo FDU e FDF, escolhida aleatoriamente, seguiu para análise no MEV e as outras porções, das mesmas amostras, seguiram para as devidas doses de irradiação.

A porção da amostra que foi diretamente encaminhada para preparo do MEV teve a letra “A” (*After*) acrescentada à sua identificação inicial, indicando que esta amostra não foi submetida à irradiação. À porção que foi encaminhada para a irradiação acrescentou-se a letra “B” (*Before*), indicando que esta foi irradiada e posteriormente analisada no MEV.

3.2.5 Preparo das amostras para MEV

Previamente ao recobrimento das amostras, as partes controle dos grupos FDF e FDU, que não foram irradiadas, foram secas em uma estufa de convecção forçada com controle digital de temperatura. A temperatura utilizada foi $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$, durante 24 horas. Para um controle mais rigoroso da temperatura, o monitoramento também foi feito por um termopar do tipo “K”, conectado a um termômetro Ômega, modelo H21 (USA). Completada a secagem, as amostras foram colocadas em uma dissecadora contendo sílica granulada e vedadas sob vácuo. Na sequência, foram encaminhadas ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC (LCME), onde foram fixadas em *stubs* metálicos, recobertas com ouro em metalizador por 3 minutos e mantidas em estufa

a vácuo para então serem analisadas no microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM-6390LV). Essa mesma metodologia foi executada, posteriormente, para as porções das amostras que foram irradiadas em dose única e dose fracionada.

3.3 TÉCNICAS USADAS PARA CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Todas as amostras do grupo CDF e CDU foram caracterizadas, antes e depois de irradiadas, utilizando a mesma metodologia e os mesmos equipamentos, na mesma região, em três pontos diferentes da amostra, como visto na seção 3.2. As três regiões tinham seus correspondentes em todos os dentes, e as áreas eram similares nas duas porções dentais, conforme é evidenciado na figura 3.10 A e B. As porções centrais dos dentes foram caracterizadas pelo PAS, antes e depois de irradiadas, e as porções vestibulares pela espectroscopia Raman, também antes e depois de irradiadas.

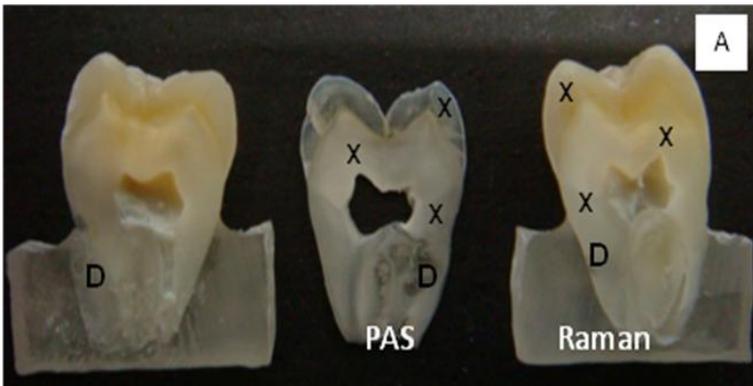




Figura 3.10 – Amostra 20 do grupo CDU antes de irradiada.

A - com suas partes separadas e seus pontos de análises para: PAS e Raman. **B** - Porções unidas, fixadas no Fantoma.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Já as amostras do grupo FDF e FDU, em que o dente foi fraturado em duas porções espaciais, foram caracterizadas pelo MEV. Como para esta caracterização as amostras necessitam de tratamento da sua superfície, uma das duas partes dos dois grupos dentais, escolhida aleatoriamente, foi caracterizada sem ser irradiada. Somente a outra metade do dente, ou seja, as outras partes dos dentes do grupo FDF e FDU foram irradiadas em doses fracionadas e dose única, respectivamente, como é visualizada na figura 3.11. Após serem irradiadas, estas amostras foram então preparadas para serem analisadas pelo MEV.

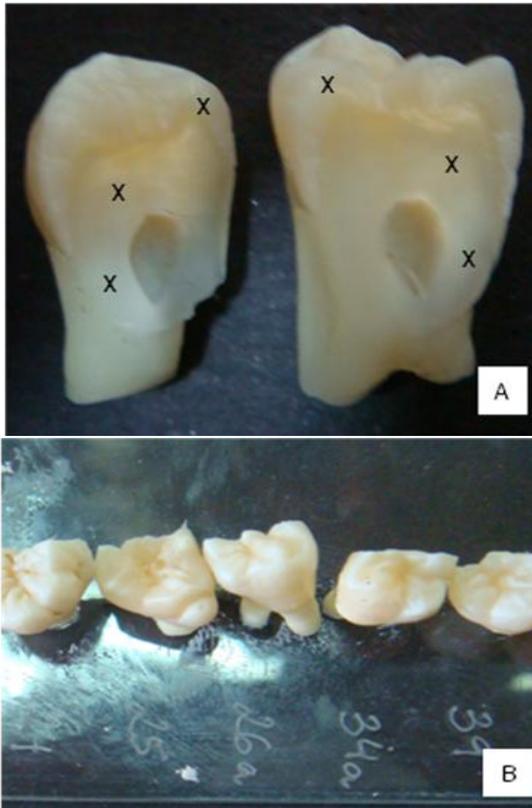


Figura 3.11 – Amostra 26a do grupo FDU.

A - as partes separadas e seus pontos de análises identificados. **B** - somente a porção a ser irradiada fixada no fantoma.

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.3.1 Espectroscopia Raman

Para alcançar nossos objetivos na busca de possíveis alterações nas estruturas e composição química do esmalte e dentina, após sofrerem irradiação para tratamento de CCP, caracterizamos as amostras pela espectroscopia Raman.

3.3.1.1 Coleta dos dados espectrais

Para avaliar, analisar e comparar os efeitos da irradiação no conteúdo da matriz orgânica e inorgânica, através dos espectros obtidos das estruturas dentais antes e após a irradiação, dois parâmetros foram considerados: (a) pico de intensidade de oito bandas; e (b) posição de oito bandas em cada espectro individual das 20 amostras. Um conjunto de 120 espectros, com suficiente qualidade de dados, foi utilizado para a análise estrutural conclusiva da dentina e esmalte (60 espectros antes da irradiação das amostras e 60 espectros após a irradiação das amostras).

Os espectros foram coletados por um espectrômetro Raman, modelo inVia 2000, fabricado pela Renishaw Reflex (Renishaw plc., Wotton-under-Edge, UK), equipado com um microscópio óptico Leica, com objetiva de magnificação de 50 x, e uma câmera com detector CCD, pertencente ao LABMAT da UFSC. A radiação monocromática emitida para a excitação da amostra foi fornecida por uma fonte *laser* de argônio (Modu-Laser, Utah, E.U.A.) de comprimento de onda de 514,5 nm, operando com potência de excitação de 20 mW na entrada. A aquisição do espectrômetro foi controlada por computador através do software - Renishaw WiRE™ 2.0 Service Pack 9.

A aquisição espectral foi com os seguintes parâmetros: modo estático, objetiva de 50 x, tempo de aquisição de 10 s, e número de 6 acumulações por espectro adquirido. Os parâmetros de tempo de aquisição e número de acumulações utilizadas foram baseados na literatura e em testes prévios feitos por nós, que mostraram não ocorrer alteração estrutural no material analisado sob as condições definidas acima (TSUDA; ARENDS, 1994; TSUDA; RUBEN; ARENDS, 1996; SAKOOLNAMARKA et al., 2005; GILCHRIST et al., 2007). Isso nos assegurou que as alterações presentes seriam provenientes exclusivamente da irradiação oriunda do AL, à que as amostras foram expostas neste experimento. Os resultados de um dos testes efetuados no estudo piloto estão no ANEXO D. A faixa de frequência foi 300 a 3300 cm^{-1} e os espectros foram gravados em condições ambientais. A faixa de frequência usada teve como objetivo incluir as bandas referentes à porção orgânica e inorgânica do material, dentro da faixa máxima permitida pelo equipamento.

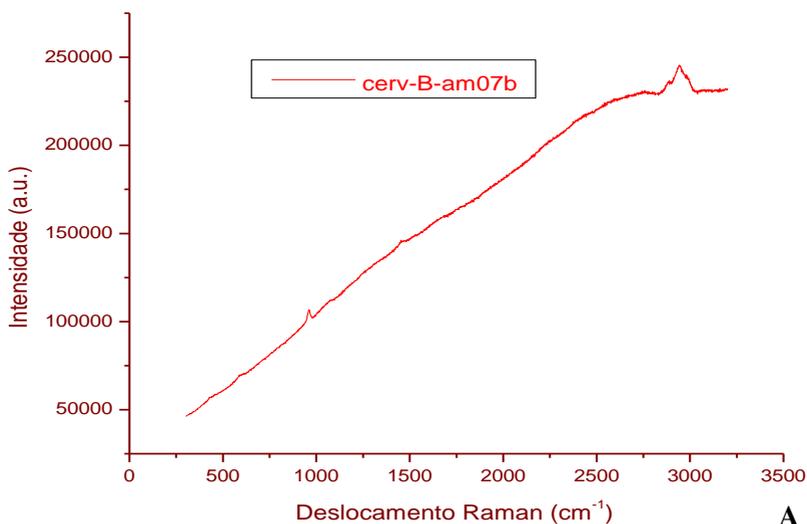
O espectrômetro foi calibrado antes e após a obtenção das três medidas em cada amostra, utilizando uma pastilha de silício como

referência. Todas as medidas foram sistematicamente realizadas sob as mesmas condições.

3.3.1.2 Tratamento e análise dos dados espectrais

Nesta etapa, para o estudo analítico e quantitativo dos componentes do material, principalmente para o estabelecimento da relação entre as intensidades dos modos vibracionais Raman e para o cálculo da área das bandas do espectro (que não foi apresentado neste trabalho), utilizamos o software DatLab® versão 1.40e (Copyright© 1998 by K.S.) para a subtração do background dos dados obtidos pelo espectrômetro Raman,.

Nenhum outro tratamento para remoção da fluorescência ou suavização adicional do espectro foi utilizado, pois as bandas de interesse na proposição deste trabalho já se apresentavam de forma evidente (Figura 3.12).

**A**

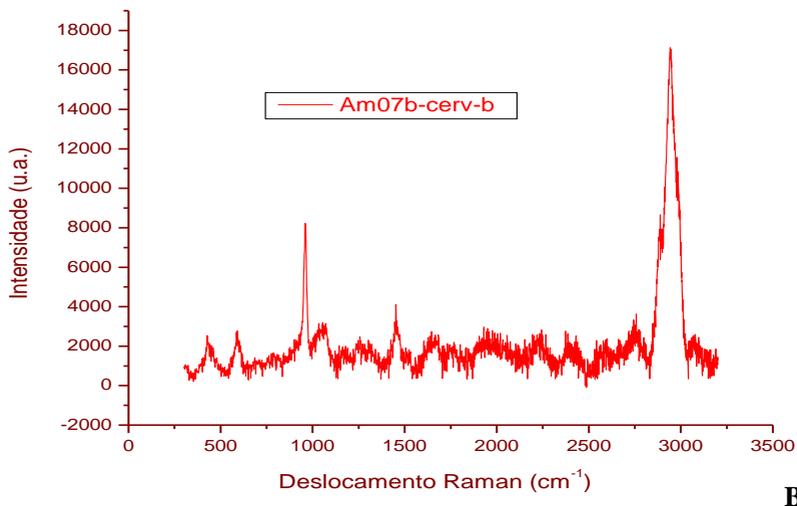


Figura 3.12 – Espectro Raman da dentina cervical - amostra 07b. A – Inicial obtido com o software – Renishaw WiRE™ 2.0 . B – Mesmo espectro obtido após o uso do DatLab.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Após a normalização, os espectros das diferentes amostras foram comparados pela análise da posição e da intensidade dos picos da banda.

As alterações nas estruturas orgânicas e minerais do esmalte, da dentina coronária e da dentina cervical foram avaliadas pela comparação do deslocamento e da intensidade relativa dos picos, antes e após a irradiação, em oito regiões no espectro Raman, conforme é dado na tabela 3.3 (SOARES et al., 2007a; SCHULZE et al., 2004; TAGLIAFERRO et al., 2009; TSUDA; RUBEN; ARENDS, 1996; SAKOOLNAMARKA et al., 2005; GILCHRIST et al., 2007).

Tabela 3.3 – Distribuição dos grupos químicos nas regiões do espectro Raman correspondente a seus modos vibracionais – Porção Inorgânica.

$\text{PO}_4^{-3} - \nu_2$	$\text{PO}_4^{-3} - \nu_4$	$\text{PO}_4^{-3} - \nu_1$	$\text{PO}_4^{-3} - \nu_3 / \text{CO}_3^{-2} - \nu_1$
420 – 450 cm^{-1}	570 - 600 cm^{-1}	960 cm^{-1}	1026 -1080 cm^{-1}

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 3.4 – Distribuição dos grupos químicos nas regiões do espectro Raman correspondente a seus modos vibracionais – Porção Orgânica.

Amida III – N-H	CH ₃ – CH ₂	Amida I – C=O	C-H
1246 - 1270 cm ⁻¹	1403 - 1492 cm ⁻¹	1650 - 1690 cm ⁻¹	2900 - 3039 cm ⁻¹

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.3.1.3 Análise estatística

Os dados foram inicialmente inseridos em planilha eletrônica, no software Microsoft Excel. Em seguida, foram exportados para o pacote estatístico Stata 9, onde foram analisados. Realizou-se a análise descritiva dos dados, apresentando-se medidas de tendência central (média e mediana) das intensidades e posições dos picos em oito bandas, segundo os diferentes espectros para o esmalte, dentina coronária e dentina cervical. O mesmo procedimento foi realizado para as diferenças entre as intensidades e posições dos picos, antes e depois da radiação, para as mesmas oito bandas do espectro. Para testar as diferenças entre as médias das intensidades e posições dos picos antes e depois da irradiação e entre os valores observados na dentina coronária e cervical, realizou-se o teste de Wilcoxon (Wilcoxon Matched-Pairs Signed-Ranks Test). Trata-se de um teste não paramétrico indicado para verificar diferenças entre grupos relacionados, ou seja, entre grupos em que as amostras são dependentes (os mesmos espécimes são analisados antes e depois) e a distribuição não é normal (o número de amostras é bastante reduzida, ora n=10, ora n=9). Consideraram-se como diferentes os grupos em que o p-valor foi menor que 0,05 (GERNHARDT et al., 2001; KIRKWOOD; STEME, 2003).

3.3.2 Espectroscopia fotoacústica

A espectroscopia fotoacústica apresentou um grande avanço nos últimos anos, como técnica de análise de materiais e sistemas. Estudos fotoacústicos são possíveis em praticamente todos os tipos de

substâncias, tais como orgânicas, inorgânicas, materiais biológicas e, ainda, nos três estados em que a matéria se apresenta ordinariamente (sólidos, líquidos ou gases).

Mudanças na estrutura e na composição do material são os principais fatores modificadores das propriedades termofísicas dos materiais. Assim, este trabalho se propôs a investigar algumas características termo-físicas do esmalte e dentina através da determinação da difusividade térmica, determinados por meio do tratamento adequado da amplitude e da fase do sinal fotoacústico.

As medidas foram realizadas com uma célula fotoacústica aberta, cuja construção permite medidas do sinal por transmissão do calor na amostra, em função da frequência de modulação da radiação incidente.

3.3.2.1 Aquisição das medidas

As medidas de absorção fotoacústica pontuais nas amostras dentais foram realizadas em uma célula fotoacústica aberta (OPC), montada no LSCM. A montagem consiste em uma fonte de *laser* semiconductor, com comprimento de onda de 639 nm (energia de 1,94 eV) e de 35 mW (Coherent, Inc.), alimentada por uma fonte Bentham 605. O feixe de radiação é modulado por um chopper Perkin-Elmer, modelo 197 e focado sobre a amostra.

As amostras foram removidas dos recipientes contendo água, secadas em papel absorvente e fixadas com graxa de vácuo diretamente em frente ao microfone. Eram então irradiadas periodicamente pela luz do *laser*, operando em potência de 20 mW na saída, gerando os efeitos fotoacústicos.

Essa operação era repetida para a aquisição das medidas nas três regiões definidas da mesma amostra (Figura 3.13). Para eliminar vestígios da graxa de vácuo sobre a parte da amostra onde seria tomada a 2ª e a 3ª medida, o que poderia causar interferência nos resultados, ela foi colocada no ultrassom por 1 minuto a 60 °C, após o término da cada medida.

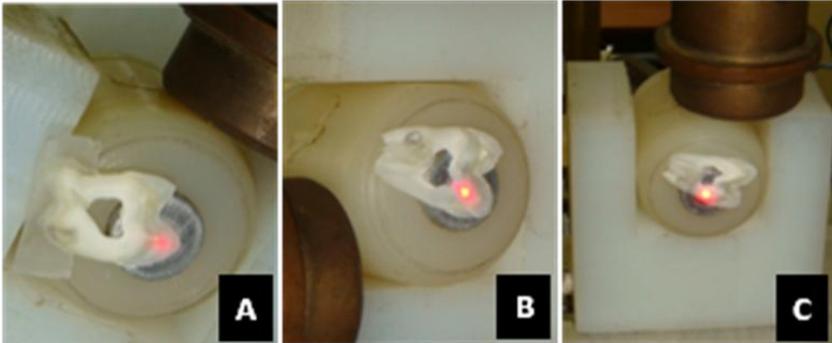


Figura 3.13 – Medidas de absorção fotoacústica sendo realizadas nas três regiões.

A – Esmalte, B – Dentina Coronária e C - Dentina Cervical.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A fim de atingir o regime termicamente espesso, as medidas foram realizadas na faixa de frequência de 10 a 200 Hz, sendo o sinal fotoacústico registrado em função da frequência de modulação. O sinal captado pelo microfone de eletreto da célula PA era enviado ao amplificador síncrono conectado ao microcomputador, onde os dados foram armazenados em arquivos .dat e .txt. Os gráficos resultantes foram gerados através do programa Origin 6.0 (Microcal Software Inc.) (Figura 3.14).

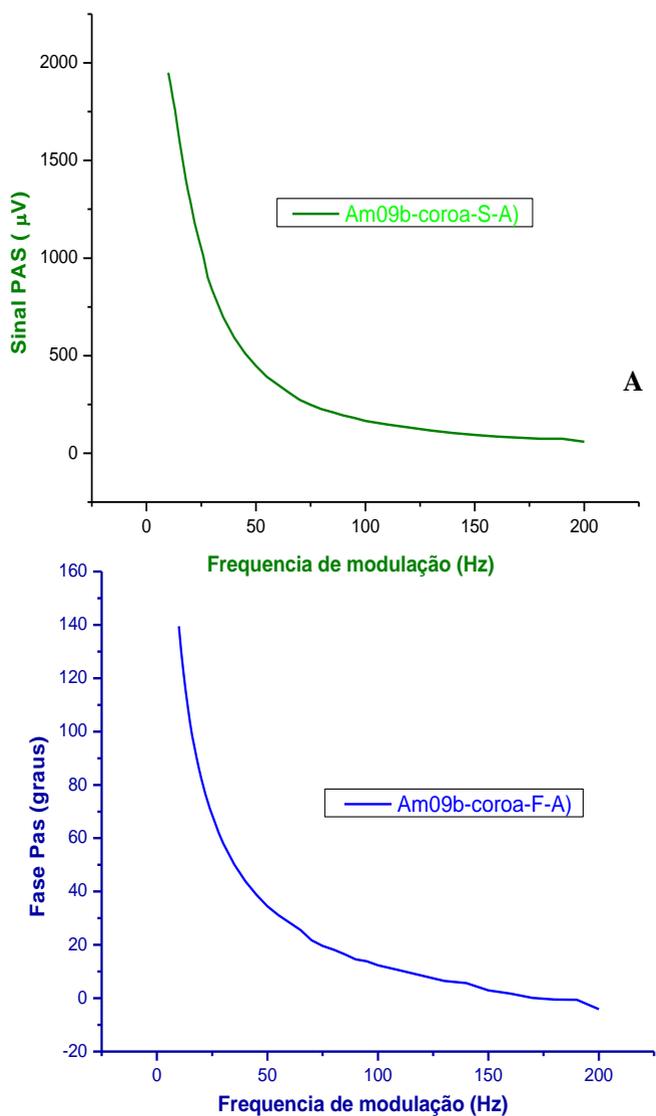


Figura 3.14 – Gráficos gerados pelo Origin, amostra 09b, dentina coronária. A – gráfico das medidas do sinal. B – Gráfico das medidas da fase do sinal.

Fonte: Elaborada pelo autor.

As medidas iniciais (anteriores à irradiação) e finais (após a irradiação) das amostras foram coletadas em temperatura ambiente para todas as amostras dos grupos CDF e CDU, no esmalte, dentina coronária e dentina cervical, obtendo-se um total de 120 medidas.

3.3.2.2 Ajustes dos dados experimentais

Para as amostras dos grupos FDU e FDF (antes e após a irradiação), que apresentavam descontinuidade da fase do sinal, o cálculo da α foi pelo método de Balderas-Lopez et al (1999), descrito na seção 2.6.

Sabendo que a frequência de corte é dada pela equação

$$fc = \frac{\alpha}{\pi \cdot l_s^2} \quad (3.1)$$

onde, α é a difusividade e l_s a espessura da amostra, substituindo fc na equação 2.9 obtemos

$$\alpha = \pi \cdot \left(\frac{l_s}{\partial} \right)^2 \quad (3.2)$$

Sendo que o coeficiente linear (∂) é dado por

$$\partial = \frac{l}{\sqrt{\frac{\alpha}{\pi}}} \quad (3.3)$$

Obtem-se α pela equação abaixo:

$$\alpha = \frac{4 \cdot f \cdot l^2}{(2n+1)^2 \cdot \pi} \quad (3.4)$$

onde n é o índice correspondente a uma descontinuidade específica ($n = 0$ corresponde a 1ª descontinuidade).

Assim, o cálculo da difusividade usado neste trabalho, para as amostras que apresentaram descontinuidade de fase, foi obtido pela equação 3.4

Tomemos como exemplo as medidas obtidas no esmalte da amostra 05, antes e após a irradiação, cujos gráficos da lag fase estão nas figuras 3.15 e 3.16.

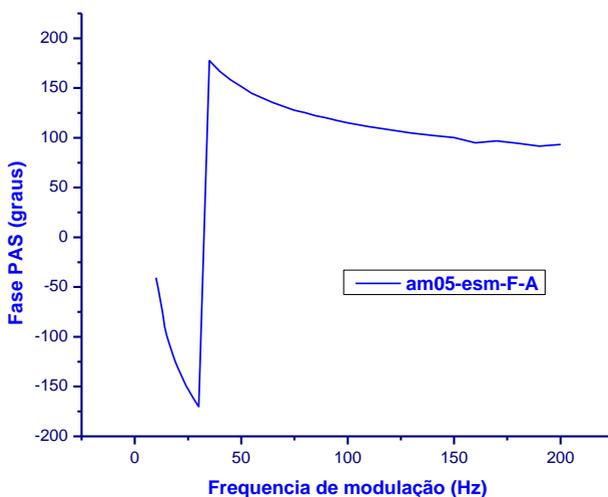


Figura 3.15 – Gráfico da fase do esmalte da amostra 05 antes da irradiação, mostrando a presença da descontinuidade na frequência de 30 Hz.

Fonte: Elaborada pelo autor

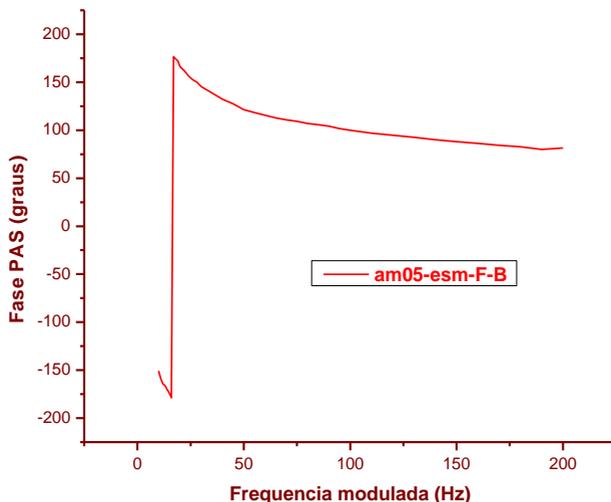


Figura 3.16 – Gráfico da fase do esmalte - amostra 05, após ser irradiado, mostrando a presença da descontinuidade na frequência de 16 Hz.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Na figura 3.15 em que as medidas foram feitas antes da irradiação, a descontinuidade ocorreu na frequência de 30 Hz, sendo n igual a 1, ou seja, a descontinuidade observada correspondia à segunda ocorrência. Usando a equação 3.4 obtivemos o valor da difusividade do esmalte da amostra 05, antes da irradiação, de $0,005139 \text{ cm}^2/\text{s}$.

Esta mesma amostra, na mesma região do esmalte, após ser irradiada (Figura 3.16), apresentou descontinuidade da fase na frequência de 16 Hz, com n também sendo igual a 1. Usando a mesma equação 3.4 obtivemos o valor da difusividade no esmalte da amostra 05 de $0,0027412 \text{ cm}^2/\text{s}$. Uma redução de aproximada de 50% no valor da difusividade após a amostra ter sido irradiada com uma dose única de 70 Gy.

Para as amostras que não apresentavam descontinuidade, foi criado um programa baseado na média dos valores de difusividade que apresentaram descontinuidade (desconsiderando os valores que estavam fora dos valores da literatura), das espessuras das amostras, e criado uma constante (Y) como fator de escala. Esse programa permitia obter a

difusividade pelo melhor ajuste da curva de cada medida com a curva apresentada pelo programa, como mostra a figura 3.17.

Os valores de difusividade, tanto para o esmalte quanto para a dentina, que se apresentavam muito fora dos valores reportados na literatura, conforme é apresentado na tabela 2.2 para o esmalte e tabela 2.3 para a dentina, foram descartados. Acredita-se que as discrepâncias nos valores por nós alcançados deviam-se mais a erros no experimento do que a presença de variações estruturais na amostra analisada.

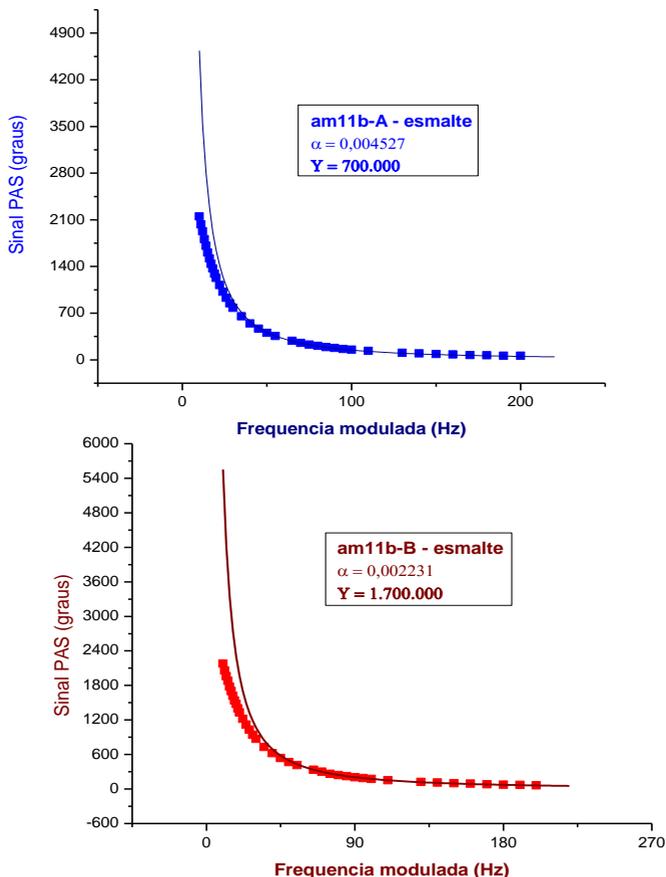


Figura 3.17 – Ajuste de curva obtida no cálculo da difusividade no esmalte - amostra 11b. A – Valor da difusividade obtida antes da amostra ser irradiada. B – Valor da difusividade após a amostra ser irradiada.

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.3.3 Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura foi usada para descrever a topografia superficial do esmalte, dentina coronária e cervical para cada amostra dos grupos FDF e FDU, antes e depois de irradiadas pelo AL.

Todos os espécimes das amostras do grupo FDF e FDU (9 amostras em cada grupo) foram analisados com auxílio da microscopia eletrônica de varredura. As amostras, devidamente preparadas, foram em parte (7 amostras do grupo FDU) observadas em um microscópio eletrônico de varredura Philips XL-30 (Philips Electric Corporation, Eindhoven, Holanda) do Laboratório de Materiais (LabMat) da UFSC, e as demais amostras foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura JSM-6390LV (JEOL, Tóquio, Honshu, Japão) no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC. Para observação das amostras foram utilizados, nos dois microscópios, aumentos de 2000 x, 5000 x, 10000 x e 20000 x, com tensão de aceleração de 15 kV no microscópio do LabMat, e de 25 kV para JSM-6390LV (LCME).

Cada porção (1dente = 2 porções) da amostra foi observada em três pontos (esmalte, dentina coronária e dentina cervical) com aumentos acima descritos, perfazendo um total de 12 imagens por espécime. Ao final, foram obtidas 216 imagens das 18 amostras em estudo.

As imagens obtidas da porção dental que não foi irradiada e as imagens da sua porção especular correspondente, que foi irradiada, foram comparadas dentro dos diversos aumentos utilizados.

3.4 IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS

Após terem sido feitas as devidas caracterizações iniciais pela absorção fotoacústica e pela espectroscopia Raman, as amostras dos quatro grupos foram, então, irradiadas, simulando *in vitro* as condições *in vivo* da dosagem de radiação para tratamento do CCP, em dose 70 Gy de forma fracionada e em dose única. As experiências *in vitro* têm sido empregadas a fim de avaliar os efeitos radiogênicos nos dentes e permitir o estabelecimento de circunstâncias experimentais estandardizadas (SPRINGER et al., 2005).

3.4.1 Construção do fantoma

Para simular as doses reais expostas pelos dentes *in vivo* no tratamento do CCP, foram construídos dois fantasmas em acrílico, cuja forma e medidas podem ser compreendidas na figura 3.18. Um fantoma foi utilizado para as amostras dentais que foram irradiadas em dose única (grupos CDU e FDU) e o outro para as amostras que foram irradiadas em dose fracionada.

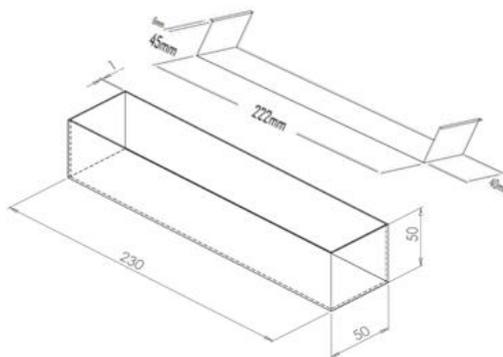


Figura 3.18 – Dados da construção do Fantoma.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Antes de serem fixadas no fantoma, as três porções de cada amostra dental do grupo CDF e CDU foram reunidas de forma a se agruparem novamente em 20 dentes inteiros, simulando sua forma original. Os grupos dos dentes fraturados (FDF e FDU) foram formados somente pela metade do elemento dental, pois a outra parte foi destinada à caracterização pelo MEV, como sendo a face especular da que seria irradiada.

Após devidamente agrupados em posição original, os dentes foram fixados centralmente na parte removível do fantoma, sendo devidamente identificados (Figura 3.19 - A e B). Para que os dentes recebessem isodoses, marcações que se alinhavam ao feixe *laser* do Gantry foram feitas nos fantasmas. Essas linhas referenciais também permitiam que a posição centralizada das amostras fosse reproduzida em

todas as sessões de radioterapia do fantoma que foi submetido à dose fracionada (Figura 3.20 - A, B e C).



Figura 3.19 – Visão dos dentes no fantoma.

A – Visão superior dos dentes fixados na placa móvel do fantoma. B – Placa com os dentes colocados dentro da base do fantoma.

Fonte: Elaborada pelo autor.



Figura 3.20 – Execução das marcações de linhas referenciais para o correto posicionamento do fantoma.

A – Executando as marcações. B – Detalhe das marcações. C – Conferência do correto posicionamento.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os fantasmas foram preenchidos com água, recobrendo as amostras em, aproximadamente, 2 cm. O fantoma com as amostras dos grupos CDU e FDU foram irradiados em dose única de 70 Gy. Essas

amostras, após a irradiação, permaneceram em água até que tivessem sua caracterização final concluída (PAS e RAMAN). As amostras do grupo FDU também foram recolocadas em água até seu encaminhamento para serem tratadas para análise no MEV.

As amostras dentais dos grupos que receberam dose fracionada foram mantidas dentro do fantoma imersas em água que continuou sendo trocada em dias alternados, até completar as 35 aplicações de irradiação.

3.4.2 Irradiação

Todas as amostras dos quatro grupos foram irradiadas com o aparelho CLINAC 600 CD (Varian Medical System) pertencente ao Centro de Pesquisas Oncológicas (CEPON), com fótons de radiação de 6 MeV, distância da fonte à espécie de 100 cm e campo de 30 cm x 7 cm. Todas as irradiações foram feitas em temperatura ambiente.

A programação utilizada nas amostras dos grupos CDF e FDF foi equivalente a uma dose total de 70 Gy aplicados em doses fracionárias diárias de 2 Gy em cinco dias da semana, num total de 35 aplicações, entre 4 de janeiro de 2010 a 23 de fevereiro de 2010. Nas amostras dos grupos CDU e FDU, foi administrada uma única dose de 70 Gy em 04 de janeiro de 2010.

A dose usada foi de 3437 UM (unidade monitorada) para a dose única e de 98 UM para a dose diária de 2 Gy, em cada lado do fantoma (isodose).

Os cálculos efetuados para quantificar os parâmetros utilizados na dosagem fracionada e única de 70 Gy são apresentados no ANEXO B, juntamente com a planilha que contém informações diárias sobre datas e horários das aplicações das doses, e físico responsável pelas aplicações da radiação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESPECTROSCOPIA RAMAN

4.1.1 Grupos CDF e CDU antes da irradiação

Os espectros analisados nas amostras antes de serem irradiadas foram espectros Raman típicos de dentina e esmalte humanos normais, que abrangem a região de 300 a 3300 cm^{-1} (Figuras 4.1 e 4.2). A análise espectral mostrou bandas bem definidas que distingue as duas partes características do espectro, tanto para o esmalte quanto para a dentina: a fase mineral, identificada pela presença dos grupos fosfatos e carbonatos da hidroxiapatita; e a fase orgânica (proteína e colágeno), representada pelos modos vibracionais da amida e CH (TAGLIAFERRO et al., 2009; TSUDA; RUBEN; ARENDS, 1996). As frequências médias das bandas do esmalte e dentina, e suas atribuições, obtidas neste trabalho por espectroscopia Raman, estão resumidas na tabela 4.1.

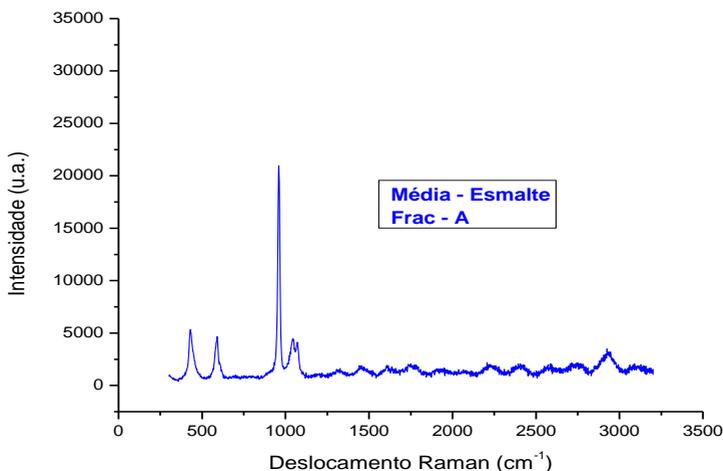


Figura 4.1 – Média do espectro do esmalte antes de irradiado – Grupo CDF. O pico mais evidente está em 960 cm^{-1} , característico do $\text{PO}_4^{3-} - \nu_1$, pertencente à fase inorgânica.

Fonte: Elaborada pelo autor.

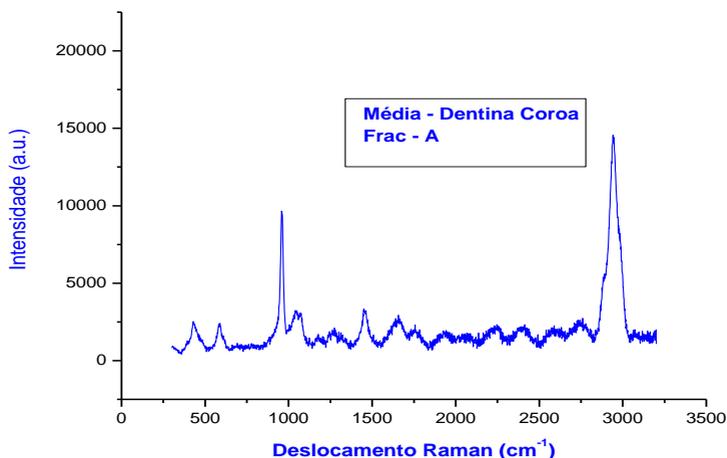


Figura 4.2 – Média do espectro da dentina coronária antes de irradiada – Grupo CDF. Os picos mais evidentes estão em 960 cm^{-1} , característico do $\text{PO}_4^{3-} - \nu_1$, e em 2900 cm^{-1} do C-H.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4.1 – Mediana das posições das bandas do espectro Raman para esmalte e dentina coronária do grupo CDF, antes de serem irradiadas.

Posição Pico	Espectro (cm ⁻¹)							
	PO v ₂	PO v ₄	PO v ₁	PO v ₃ CO v ₁	Amida III	CH ₃ - CH ₂	Amida I	C-H
Esmalte	434	589	960	1041	1318	1458	1618	2927
Dente Coroa	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946

Fonte: Elaborada pelo autor.

Representante do espectro Raman do **esmalte** é mostrado na figura 4.1, com um pico forte e principal em 960 cm⁻¹, que está associado à vibração do fosfato (PO₄⁻³ - v₁) em modo alongamento, pertencente ao componente mineral da hidroxiapatita. As bandas em 434 cm⁻¹ (v₂), 589 cm⁻¹ (v₄) e 1041 cm⁻¹ (v₃) representam os diferentes modos de vibrações do fosfato. Esta banda em 1041 cm⁻¹ também pode representar a vibração v₁ do carbonato (carbonato do tipo A). São atribuídas aos componentes orgânicos do esmalte, menos intensos do que na dentina, a banda em 1318 cm⁻¹, característica da amida III; a banda em 1458 cm⁻¹, que é atribuída à flexão do C - H e a banda centrada em 1618 cm⁻¹ é atribuída ao modo de Amida I (colágeno tipo I). A banda mais característica e evidente da fase orgânica está centrada em 2927 cm⁻¹, que decorre das vibrações de estiramento do C-H dos grupos CH, CH² e CH³, que compõem a matriz orgânica. Esses valores atribuídos às bandas da fase orgânica e inorgânica estão em concordância com o estudo de He e Swain (2009), em cujo estudo analisaram as variações nas propriedades mecânicas do esmalte interno e superficial pela comparação da composição química obtida pela análise Raman.

O espectro Raman da dentina, que é mostrado na figura 4.2, apresenta as mesmas bandas do esmalte, mas com uma pequena mudança na posição dos picos (Tabela 4.1). As bandas da porção inorgânica características das vibrações do PO₄⁻³ estão centradas em 435 cm⁻¹, 587 cm⁻¹, 959 cm⁻¹, 1052 cm⁻¹, correspondendo aos modos de v₂, v₄, v₁ e v₃, respectivamente. As bandas da porção orgânica apresentam uma mudança maior nos valores da posição dos picos, sendo localizadas

em: Amida III em 1271 cm^{-1} , CH3 – CH2 em 1455 cm^{-1} , Amida I em 1653 cm^{-1} , e C-H em 2946 cm^{-1} . A dentina também apresenta a banda em 959 cm^{-1} como a mais intensa da fase mineral, e a banda em 2946 cm^{-1} como a mais forte e importante da fase orgânica. Estes valores da posição média das bandas também estão de acordo com os valores apresentados por Camerlingo et al (2004), que avalia as modificações químicas e estruturais em dentina tratada com *laser*.

Os gráficos das figuras 4.3 e 4.4 representam as medianas dos valores da intensidade obtidos pela espectroscopia Raman nas amostras dos grupos CDF e CDU, antes de serem irradiadas, para o esmalte, dentina coronária e cervical. Mostram que apesar das medidas terem sido feitas antes dos dentes serem irradiados para os dois grupos, as variações na mediana da intensidade dos picos estão presentes tanto no esmalte quanto nas dentinas. O pico com maior variação na intensidade entre os dois grupos no esmalte está na banda em 960 cm^{-1} e na dentina coronária também na banda em 587 cm^{-1} e em 2947 cm^{-1} . Já na dentina cervical, é bastante acentuada na banda em 2947 cm^{-1} . A tabela 4.2 contém os valores da intensidade dos picos da dentina coronária do grupo CDF e CDU, onde se pode confirmar a presença dessas variações. Pela tabela 4.3 podemos verificar a ausência de variação na posição dos principais picos da fase inorgânica e orgânica da dentina coronária entre os dois grupos, o que denota que não há variação estrutural entre as amostras, mas que diferem na proporcionalidade das fases presentes.

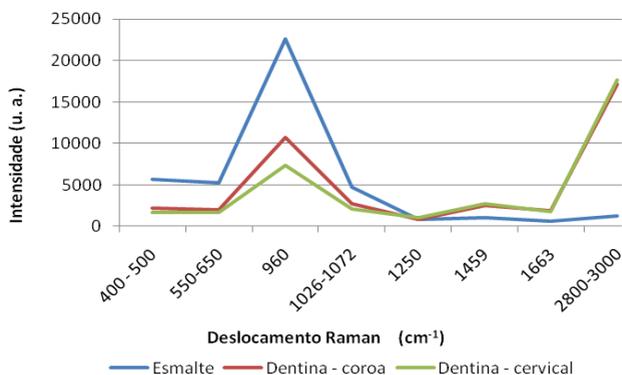


Figura 4.3 – Mediana da intensidade dos picos antes da irradiação segundo os diferentes espectros de exposição – Dose fracionada.

Fonte: Elaborada pelo autor.

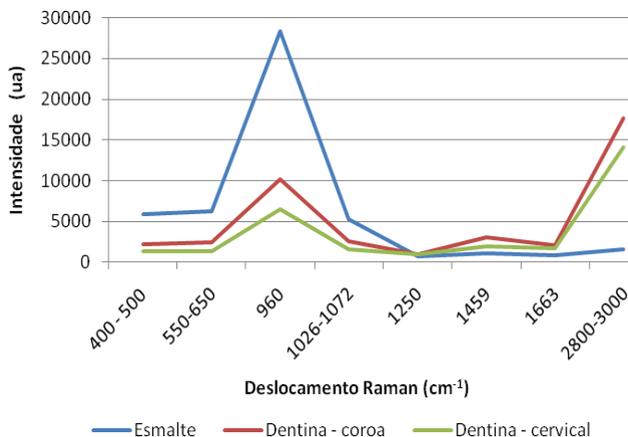


Figura 4.4 – Mediana da intensidade dos picos antes da irradiação segundo os diferentes espectros de exposição – Dose única.
Fonte: Elaborada pelo autor.

A contribuição mais provável para as variantes na intensidade dos picos é a complexidade dos tecidos dentais, com sua variável cristalinidade inerente aos tecidos dentais, ao sexo, idade, nutrição etc., que fazem com que variações nos resultados sejam esperadas e de difícil controle, pois a busca de uma amostragem unificada mostra-se exaustiva e improvável. Apesar da tentativa de formar dois grupos com amostras similares, esta diversificação entre os pacientes, grupos de dentes e até mesmo intradental, foi o provável provedor de valores não análogos entre os dois grupos pré-irradiados (FERRARIS, 2006; LOBO et al., 2004; YAMADA et al., 2004). Portanto, podemos constatar que as diferenças nesses valores se devem às características próprias das estruturas em análise e não como resultado de variações na metodologia experimental em si. Na tentativa de neutralizar essas variáveis, fizemos as medidas na mesma região dental antes e depois das amostras serem irradiadas, onde todos os resultados foram obtidos rigorosamente dentro da mesma metodologia e nas mesmas regiões de cada estrutura dental.

Tabela 4.2 – Mediana das intensidades dos picos antes da irradiação segundo as diferentes bandas para a dentina coronária do grupo CDF e CDU.

Intensidade	Espectro (cm ⁻¹)							
	PO v ₂	PO v ₄	PO v ₁	PO v ₃	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
CDF	2192	2041	10763	2709	862	2516	1924	17136
CDU	2240	2373	10144	2509	1008	3015	2102	17719

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4.3 – Mediana das posições dos picos antes da irradiação segundo as diferentes bandas para a dentina coronária do grupo CDF e CDU.

Posição	Espectro (cm ⁻¹)							
	PO v ₂	PO v ₄	PO v ₁	PO v ₃	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
CDF	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
CDU	437	587	959	1045	1274	1454	1656	2946

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.1.2 Dentina Coronária e Dentina Cervical antes da irradiação – Comparativo

Os valores da intensidade das bandas na dentina coronária e cervical, antes da irradiação, são apresentados na tabela 4.4, onde também pode ser visto o percentual de aumento da intensidade dos picos entre as duas dentinas. Os resultados permitem ressaltar que há diferenças entre a dentina coronária e dentina cervical nas amostras medidas antes de serem irradiadas, portanto, em dentes normais.

Em todas as bandas da fase inorgânica, as intensidades dos picos da dentina coronária se mostraram visivelmente mais intensos do que os da dentina cervical. As bandas correspondentes ao fosfato em v₁ e v₄ se

mostraram estatisticamente significantes ($p = 0,017$ e $0,037$, respectivamente), enquanto que na porção orgânica não houve significativas alterações.

Tabela 4.4 – Mediana das intensidades das bandas da dentina coronária e cervical em dentes do grupo do grupo CDF antes de serem irradiados.

Intensidade	Espectro (cm^{-1})							
	PO ν_2	PO ν_4	PO ν_1	PO ν_3	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
Dent Coroa	2192	2041	10763	2709	862	2516	1924	17136
Dent Cervical	1705	1630	7317	2103	1094	2722	1807	17648
#	-487	-411	-3445	-605	231	206	-116	511
p-valor [‡]	0,139	0,037	0,017	0,059	0,646	0,959	0,575	0,878

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

Em relação à posição dos picos, praticamente não ocorreu nenhuma mudança de valor entre a dentina coronária e a cervical, como pode ser comprovado na Tabela 4.5. Isso ratifica que as estruturas da dentina coronária e da dentina cervical são as mesmas, mas que existe uma mudança na relação entre o material orgânico e inorgânico que permite diferenciá-las pela espectroscopia Raman. Logo, essas variações são atribuídas a mudanças na quantidade de material mineral (variado níveis de mineralização, matéria orgânica e água), e a mudanças na microestrutura (variação na fração volumétrica dos cristais inorgânicos e matriz orgânica) (HE; SWAIN, 2009).

Tabela 4.5 – Mediana da posição dos picos das bandas da dentina coronária e cervical em dentes do grupo CDF, antes de serem irradiados.

Posição	Espectro (cm ⁻¹)							
	PO v ₂	PO v ₄	PO v ₁	PO v ₃	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
Dent Coroa	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
Dent Cervical	435	587	959	1052	1271	1455	1652	2947
#	0	0	0	-1	-1	0	-2	1
p-valor [‡]	0,721	0,284	0,721	0,721	0,386	0,878	0,114	0,139

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

A dentina coronária apresenta uma maior mineralização da dentina peritubular e intertubular pela deposição de minerais que ocorrem simultaneamente à morfogênese e durante todo o envelhecimento do dente, cuja consequência é uma redução da luz dos canalículos dentinários. Isso é expresso na espectrometria Raman pela maior intensidade das bandas pertencentes à fase inorgânica e redução na intensidade das bandas da fase orgânica, pois ocorre a substituição da porção orgânica por tecido mineral, ou seja, há um aumento na quantidade de hidroxiapatita (XU et al., 2009; KO et al., 2005).

As mudanças na intensidade dos picos da porção inorgânica e a não variação na posição dos picos entre a dentina coronária e dentina cervical nos permite utilizar esta técnica para caracterizar o espectro da dentina em diferentes localizações do dente. Tsuda e Arends (1996) contradizem esta conclusão por não terem conseguido poder distinguir a dentina coronária da dentina radicular pela microespectroscopia Raman, quando analisaram o esmalte e, principalmente, a dentina coronária e radicular sob os efeitos do uso do hipoclorito de sódio, utilizando um *laser* de Argônio com $\lambda = 515$ nm. Porém, Tramini et al (2000) confirmam o uso da espectroscopia Raman, pelas mudanças na intensidade da banda PO₄⁻³, para definição do tipo de dentina, localização anatômica e idade do paciente. Concluiu que a variabilidade

da estrutura química da dentina revela uma significativa diferença espectral entre a dentina coronária e radicular.

Assim, estudos mais recentes têm incluído a espectroscopia Raman como um meio de análise de alta sensibilidade, o que é comprovado pelo seu uso na análise das estruturas dentais, inclusive para a diferenciação entre esmalte mais interno do mais externo ao dente (NELSON; WILLIAMSON; 1982; SCHULZE et al., 2004).

É o que mostra He e Swain (2009) em análise do esmalte ao longo da JAD, que utilizando *laser* de Nd:YAG com $\lambda = 1.064$ nm, encontrou aumento da intensidade da banda do fosfato em 960 cm^{-1} nos espectros coletados na região externa do esmalte. Essas diferenças de composição química são fatores que influenciam as propriedades mecânicas das diferentes regiões do esmalte.

Em outro estudo, também em 2009, Xu et al mostraram haver diferenças na estrutura molecular/química ao longo da JAD, que era dependente da localização intradental, usando a razão entre matriz orgânica e inorgânica, dada pela espectroscopia Raman. Nesse estudo utilizaram o *laser* de He-Ne com $\lambda = 632,8$ nm.

Neste experimento também utilizamos um *laser* de $\lambda = 514$ nm e achamos ser possível identificar diferenças entre a dentina coronária e cervical. A visualização dessas diferenças pode ter sido devido à forma de obtenção do espectro, pois a qualidade de um espectro Raman é dependente de ajustes do instrumento tais como abertura confocal, potência do *laser*, largura da fenda espectral e da presença de rugosidades superficiais que interferem na concentração do feixe de *laser*. Junto com essas variáveis relacionadas ao equipamento, temos que incluir importantes fatores como o número e tempo de aquisição dos dados, pois estes vão influenciar na formação da fluorescência, que é um ponto forte de influência para a visualização do espectro.

É assim que Sakoolnamarka et al. (2005) justificam terem conseguido diferenciar dentina cervical sadia de dentina cervical com lesão não cáries, pelo Raman com *laser* de Argônio de $\lambda = 514,5$ nm.

A variação no espectro Raman do esmalte, dentina coronária e dentina cervical pode também ser vista no gráfico da figura 4.5. As médias nas intensidades dos picos a 960 cm^{-1} no espectro do esmalte, dentina coronária e dentina cervical, da amostra CDF e CDU, antes de serem irradiadas, deixam clara a presença de diferenças existentes entre esmalte, dentina coronária e dentina cervical em dentes humanos normais.

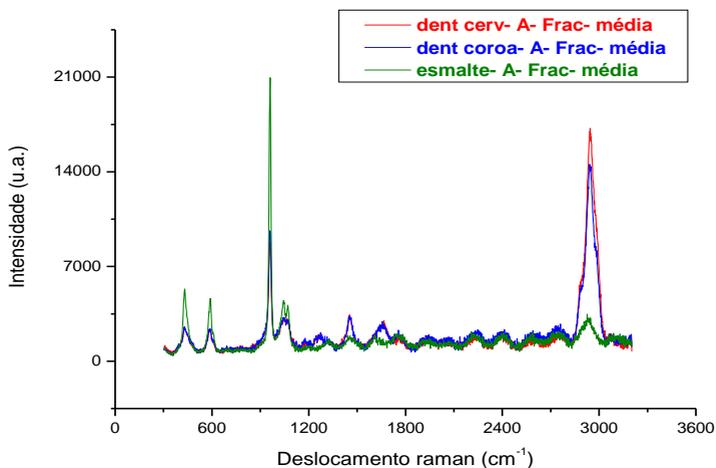


Figura 4.5 – Espectro Raman para o esmalte, dentina coronária e dentina cervical do grupo CDF antes da irradiação. Destaque para o pico correspondente PO_4^{3-} em ν_1 .

Fonte: Elaborada pelo autor.

A avaliação dos espectros do esmalte e da dentina, antes e após as amostras serem irradiadas por dose fracionada e por dose única de 70 Gy, mostraram algumas alterações importantes, tanto no esmalte quanto nas dentinas.

4.1.3 Esmalte

4.1.3.1 Dose Fracionada

O espectro comparativo com as médias das intensidades pico do esmalte, antes e depois da irradiação, em doses fracionadas (grupo CDF) são visualizados na figura 4.6 e os valores são apresentados na tabela 4.6. As diferenças foram estatisticamente significativas para todas as bandas da fase inorgânica, mostrando um aumento na intensidade desses picos após a irradiação. É importante observar as variações também presentes na banda a 2946 cm^{-1} , que também teve sua intensidade aumentada após ser irradiada, em torno de 30%. Ao contrário, nas

bandas correspondente ao amido III e I ocorreu uma redução na intensidade destes dois picos após a irradiação.

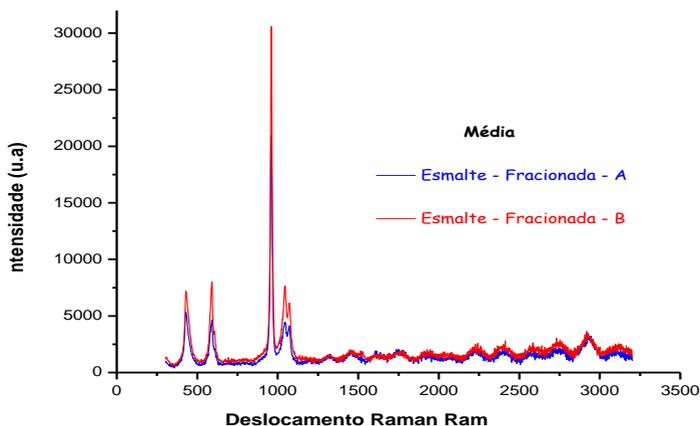


Figura 4.6 – Espectro Raman da média das intensidades do esmalte antes e após a irradiação. Dose Fracionada.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4.6 – Mediana e porcentagem da intensidade dos picos antes e após a irradiação. Dose fracionada; Esmalte.

Intensidade	Espectro (cm^{-1})							
	PO ν_2	PO ν_4	PO ν_1	PO ν_3	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	434	589	960	1041	1318	1458	1618	2927
Antes	5679	5275	22617	4718	852	1054	675	1293
Depois	7872	7450	31847	6174	581	1131	523	1687
#	2193	2175	9229	1455	-270	77	-152	394
%	38,6	41,2	40,8	30,9	-31,8	7,3	-22,5	30,5
p-valor [‡]	0,0284	0,0166	0,0218	0,0367	0,6858	0,2845	0,0858	0,2845

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

Em relação à posição dos picos, a tabela 4.7 aponta a ocorrência de mudanças nas posições de todos os picos correspondentes à fase orgânica, mas bastante discreta na fase inorgânica, com ligeiro deslocamento dos picos referentes ao fosfato modo ν_2 e ν_3 , de 1 cm^{-1} para a direita. No entanto, o tratamento estatístico coloca o principal pico da fase inorgânica, $\text{PO}_4^{-3} - \nu_1$, como sendo significativo, e da porção orgânica somente o deslocamento do pico correspondente a amida III como estatisticamente significativo.

Os dados acima são indicativos que mudanças organizacionais e, provavelmente, estruturais ocorreram na fase orgânica, mas que, possivelmente, não foram refletidas na estrutura da apatita.

A redução da intensidade para as bandas da matriz orgânica correspondente ao amido III e I denota uma redução deste conteúdo pelo efeito da radiação, que pode ter eliminado parte da sua pequena porção proteica e da água presentes no esmalte (LIU; HSU, 2007). Esse pode ter sido a causa do aumento significativo na intensidade das bandas da fase inorgânica e da principal banda da fase orgânica, pois a redução de parte da fase orgânica pode ter proporcionado condições, pelo aumento do livre caminho médio, para que os diferentes modos vibracionais do fosfato e demais bandas ocorram de forma mais livre.

Tabela 4.7 – Mediana da posição dos picos antes e após a radiação. Dose fracionada; Esmalte.

Posição	Espectro (cm^{-1})							
	PO ν_2	PO ν_4	PO ν_1	PO ν_3	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	434	589	960	1041	1318	1458	1618	2927
Antes	434	589	960	1041	1318	1458	1618	2927
Depois	435	589	960	1042	1325	1455	1623	2923
#	1	0	0	1	7	-3	5	-4
p-valor [‡]	0,445	0,241	0,005	0,012	0,043	0,284	0,260	0,508

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

Diversos estudos têm usado principalmente a banda em $\sim 2940 \text{ cm}^{-1}$ para a quantificação da porção orgânica, por ser mais nítida e mais forte do que as bandas de amida (LIU; HSU, 2007). Essa banda mostrou-se bem mais intensa após a irradiação (30,5%) e teve uma mudança na posição do pico, como as demais bandas da porção orgânica, que pode ser sugestivo de alterações estruturais dos componentes da fase orgânica ainda presente.

Estudo recente ratifica os achados neste estudo de que a dose fracionada causa alterações significativas no esmalte. Soares et al (2010) demonstraram que a irradiação de 60 Gy em doses diárias de 2 Gy diminuiu significativamente a resistência à tração do esmalte (também da dentina coronária e radicular), independentemente da orientação dos prismas dentinários. Com o desaparecimento da influência dos túbulos dentinários na resistência à tração, concluíram que a irradiação é mais prejudicial aos componentes orgânicos – o que a análise Raman também confirmou neste experimento.

4.1.3.2 Dose Única

As alterações na intensidade das bandas no esmalte irradiado com dose única de 70 Gy foram nitidamente menos intensas do que no esmalte irradiado com dose fracionada de 70 Gy, tanto na fase inorgânica quanto na orgânica, como pode ser observado na tabela 4.8. O mesmo paralelo se faz em relação à posição dos picos (Tabela 4.9), pois as mudanças na posição foram mais discretas para dose única, não sendo nenhuma alteração estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Tabela 4.8 – Mediana da intensidade dos picos antes e após a radiação. Dose Única - Esmalte.

Intensidade	Espectro (cm ⁻¹)							
	8	PO v ₄	PO v ₁	PO v ₃	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	434	589	960	1041	1318	1458	1618	2927
Antes	5836	6214	28325	5261	690	1060	831	1567
Depois	7627	6444	33743	6269	663	1213	712	1892
#	1791	229	5418	1007	-27	153	-119	325
%	31	4	19	19	-4	14	-14	21
p-valor [‡]	0,0926	0,3863	0,0166	0,1141	0,9528	0,5751	0,3743	0,9594

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4.9 – Mediana da posição dos picos antes e após a radiação. Dose Única; Esmalte.

Posição	Espectro (cm ⁻¹)							
	PO v ₂	PO v ₄	PO v ₁	PO v ₃	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	434	589	960	1041	1318	1458	1618	2927
Antes	436	589	960	1042	1320	1459	1622	2923
Depois	434	589	960	1042	1321	1461	1626	2925
#	-2	0	0	0	0	2	4	2
p-valor [‡]	0,203	0,445	0,575	0,386	0,173	0,203	0,767	0,575

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os resultados comparativos da intensidade e posição dos picos quando o esmalte foi submetido a dose única e fracionada, indicam que a energia da radiação de 6 MeV aplicada em uma única dose de 70 Gy é menos danosa para as estruturas do esmalte do que quando aplicada em doses fracionadas de 2 Gy repetidas vezes. Parece-nos que a contribuição para esta ocorrência possa estar no fato de que este experimento foi feito *in vitro*, onde não existe a possibilidade de recuperação dos tecidos orgânicos no tempo decorrente entre as aplicações, tal como ocorre *in vivo*, o que pode ter levado a mudanças maiores da porção orgânica pelo efeito acumulativo da dose fracionada.

Em ambos os grupos, a porção orgânica parece ser mais afetada, com ocorrência mais vistosa nas bandas da amida III e I.

A não ocorrência de alterações significativas na solubilidade do esmalte quando submetido a altas doses de radiação (3.500 rds = 35 Gy e 5.000 rads = 50 Gy em dose única) foi constatado por Walker (1975), em estudo *in vitro* com dentes humanos. Posteriormente, em estudo do efeito da irradiação na permeabilidade de esmalte bovino com dose única de 72 Gy, Jansma et al (1990) também constataram que a alta dosagem não causou mudanças significativas no esmalte. Corroborando com estes resultados, Wiemann, Davis e Besic (1972), testando a solubilidade do esmalte como efeito da dose total de 6.500 rads (= 65 Gy) em doses únicas, também não encontraram alterações significativas no grau de solubilidade que fosse indicativo de efeito da radiação.

Estudos com uso de *laser* na superfície do esmalte têm demonstrado haver uma significativa alteração estrutural do esmalte, com redução na desmineralização pela redução do carbonato, provendo um efeito preventivo da cárie. Porém, não se pode fazer um paralelo deste estudo com os efeitos do uso do *laser* no esmalte porque o uso da radiação X para terapia não produz substancial calor no esmalte quanto do uso do *laser* (LIU; HSU, 2007; NELSON; WILLIAMSON, 1982; TAGLIAFERRO et al., 2009; YAMADA et al., 2004; MOSHONOV, et al., 2005).

Embora testes mecânicos com as amostras não fizessem parte deste estudo, para comparação direta com os estudos confrontados acima, a espectroscopia Raman mostrou alterações sutis no esmalte após irradiação com dose única e dose fracionada de 70 Gy, mas que parecem mais acentuadas quando a dose fracionada é aplicada. Essas alterações poderiam posteriormente ser quantificadas comparativamente com testes mecânicos para uma maior elucidação prática desses efeitos e comparação com trabalhos que empregaram testes mecânicos em suas avaliações

4.1.4 Dentinas Coronária e Cervical

4.1.4.1 Dose Fracionada

A **dentina coronária**, após a irradiação por dose fracionada, apresenta todas as suas bandas com aumento acentuado na intensidade, sendo estatisticamente significativa, como pode ser observado na tabela 4.10. Pela diferença entre as médias, percebe-se que o aumento da intensidade foi mais marcante para as bandas da fase orgânica (Tabela 4.10). A figura 4.7 apresenta a média dos espectros da dentina coronária, antes e depois de serem irradiados com dose fracionada (Grupo CDF), onde é visível o aumento de intensidade para todas as bandas na dentina coronária.

Tabela 4.10 – Mediana da intensidade dos picos antes e após a irradiação. Dose Fracionada; Dentina Coronária.

Intensidade	Espectro (cm ⁻¹)							
	PO v ₂	PO v ₄	PO v ₁	PO v ₃	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
Antes	2192	2041	10763	2709	862	2516	1924	17136
Depois	2655	2699	13098	3380	1189	3619	2762	24575
#	462	657	2335	671	327	1103	838	7438
%	21	32	22	25	38	44	44	43
P-valor [‡]	0,0051	0,0051	0,0051	0,0051	0,0069	0,0051	0,0093	0,0051

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

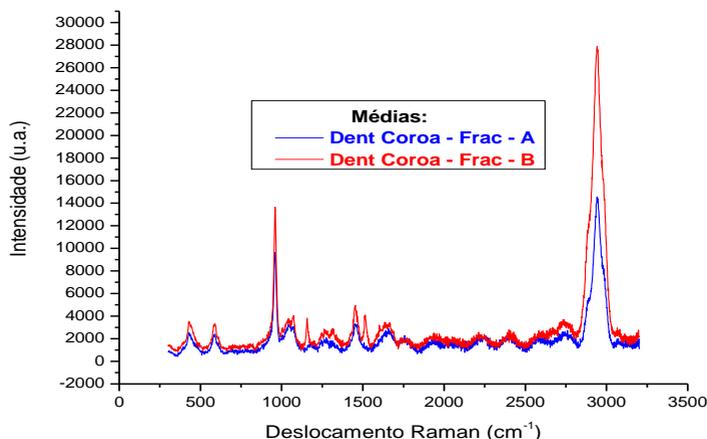


Figura 4.7 – Média dos espectros Raman da dentina coronária antes e após a irradiação. Dose Fracionada.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A tabela 4.11 apresenta os valores comparativos das mudanças de posição dos picos da dentina coronária, antes e após a irradiação fracionada, não mostrando nenhuma mudança estatisticamente significativa. É bastante provável que o aumento da intensidade dos picos possa estar associado a uma redução na desordem dos grupos funcionais da matéria da matriz orgânica, que passam a vibrarem mais livremente, e não com mudanças estruturais nos componentes da dentina (XU et al., 2009).

Entretanto, não se pode deixar de comentar as mudanças ocorridas nos picos da banda da fase inorgânica, em 1052 cm^{-1} , que pode estar relacionada à vibração principal do carbonato. O deslocamento em 6 cm^{-1} para a direita, mais para a banda do carbonato tipo B, pode ter um significado que precisa de mais esclarecimentos em estudos mais detalhados. Na fase orgânica, a banda em 1270 cm^{-1} , que mesmo não sendo estatisticamente significativas, teve um deslocamento para a esquerda de 5 cm^{-1} , que também merece estudos mais específicos.

Tabela 4.11 – Mediana da posição dos picos antes e após a radiação. Dose Fracionada; Dentina Coronária.

Posição	Espectro (cm ⁻¹)							
	PO v ₂	PO v ₄	PO v ₁	PO v ₃	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
Antes	437	587	959	1045	1274	1454	1656	2946
Depois	435	587	960	1052	1269	1453	1655	2945
#	-2	0	0	6	-5	-1	-1	-1
P-valor [‡]	0,799	0,959	0,074	0,878	0,575	0,575	0,799	0,074

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

A **dentina cervical** também apresentou aumento da intensidade dos picos na fase inorgânica e orgânica, antes e depois de irradiadas com doses fracionadas, como pode se comprovado pela porcentagem da diferença das médias, mas bem menores nas bandas da porção orgânica, se comparado com a dentina coronária. Fortemente significativo foi o aumento da principal banda representativa da fração orgânica (2946 cm⁻¹), com $p = 0,0051$. Esses dados são apresentados na tabela 4.12 e a média do espectro da dentina cervical, antes e após ser irradiada com dose fracionada, pode ser vista na figura 4.8.

Tabela 4.12 – Mediana da intensidade dos picos antes e após a irradiação. Dose Fracionada – Dentina Cervical.

Intensidade	Espectro (cm ⁻¹)							
	PO v ₂	PO v ₄	PO v ₁	PO v ₃	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
Antes	1705	1630	7317	2103	1094	2722	1807	17648
Depois	2192	2098	10057	2571	1353	3206	2114	23808
#	487	468	2739	467	259	484	307	6160
%	29	29	37	22	24	18	17	35
p-valor [‡]	0,0218	0,0069	0,0125	0,1141	0,0166	0,0593	0,2026	0,0051

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

Também não se pode deixar de apontar as alterações na posição do pico da banda em 1052 cm⁻¹, que semelhante ao ocorrido na dentina coronária, mas em menor escala, teve um deslocamento para a direita de 3 cm⁻¹. A banda da fase orgânica representativa da Amida I também apresentou um deslocamento significativo na posição do pico, como mostrado na tabela 4.13. Entretanto, esses valores também podem estar dentro da faixa de erro das medidas.

Tabela 4.13 – Mediana da posição dos picos antes e após a radiação. Dose Fracionada; Dentina Cervical.

Posição	Espectro (cm ⁻¹)							
	PO v ₂	PO v ₄	PO v ₁	PO v ₃	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
Antes	435	587	959	1052	1271	1455	1652	2947
Depois	435	587	960	1054	1269	1454	1656	2945
#	0	0	1	3	-1	-1	5	-2
p-valor [‡]	0,878	0,445	0,028	0,333	0,721	0,241	0,028	0,074

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

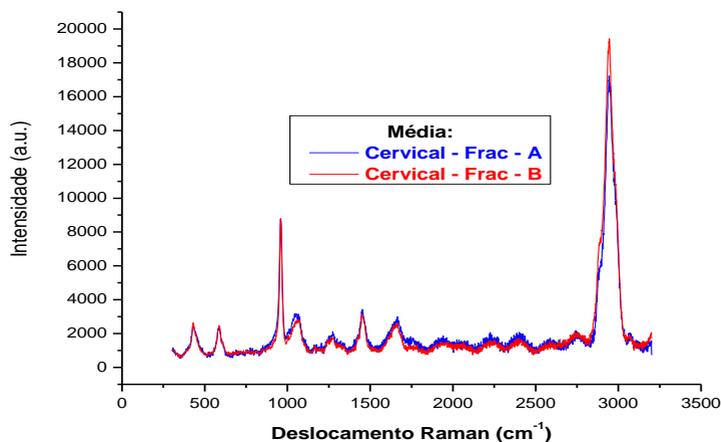


Figura 4.8 – Média dos espectros Raman da dentina cervical antes e depois de serem irradiados – Dose fracionada.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O aumento da intensidade de todas as bandas, após a irradiação da dentina cervical com dose fracionada, também deve estar associado à

redução das desordens dos grupos funcionais, principalmente da porção orgânica, permitindo que as vibrações após a irradiação ocorram mais livremente. No entanto, quando comparada com o aumento da intensidade das bandas orgânicas da dentina coronária após a irradiação, estas são bem menos intensas apesar de o conteúdo orgânico ser proporcionalmente bem maior do que na dentina coronária, como já foi visto na seção 2.3.1. Essa analogia nos leva a considerar que houve redução da matriz orgânica na dentina cervical, após a irradiação com dose fracionada, e bastante importante quando se considera a proporção de matriz orgânica. Considerando a morfologia de ambas as dentinas e que todo o dente foi submetido à radiação de 6 MeV de energia, esta maior perda da porção orgânica na dentina cervical pode ser atribuída à ação direta da radiação sobre a dentina cervical, que não tem a presença do esmalte a envolvê-la, para absorver parte da radiação como ocorre com a dentina coronária. Embora deva ter ocorrido uma diminuição significativa na quantidade de material orgânico, a radiação fracionada não os elimina, como pode ser comprovado pelos valores ainda expressivos na intensidade das bandas representativas da porção orgânica. Por estarem mais livres, as bandas da porção inorgânica passam a vibrar mais livremente e a variação, estatisticamente significativa de posição da banda atribuída ao $PO_4 - \nu_1$ é sugestiva de que a dose fracionada possa ter afetado em algum grau a estrutura inorgânica da dentina cervical, ou seja, da hidroxiapatita.

Compactuando com esses resultados, Kiebassa et al (1997) analisam os efeitos da irradiação fracionada de 60 Gy na microdureza da dentina cervical e comprovam que a dentina é severamente afetada pela irradiação.

Como já visto na discussão dos efeitos da radiação fracionada no esmalte, o estudo recente de Soares et al (2010) concluiu que a irradiação de 60 Gy, em doses diárias de 2 Gy, reduz significativamente a resistência à tração da dentina coronária e radicular pelos danos aos componentes orgânicos da dentina. Como a presença orgânica na dentina cervical é maior do que na dentina coronária, deduz-se que os danos tenham sido mais representativos na dentina cervical.

4.1.4.2 Dose Única

A **dentina coronária** irradiada com dose única mostrou alterações estatisticamente significativas na intensidade dos picos, na

maioria das bandas, como pode ser visto na tabela 4.14. A mediana dos espectros, antes e depois da irradiação, é apresentada na figura 4.9. Bastante significativas foram as mudanças apresentadas na principal banda da fase inorgânica e da orgânica, tendo PO_4^{-3} em ν_1 $p= 0,0093$ e a banda característica do C-H com $p= 0,0069$. A diferença das médias da intensidade também confirma essa acentuada mudança para as duas bandas, com um aumento de 35% para a banda fosfato em ν_1 e de 46% para a banda C-H (Tabela 4.14).

Tabela 4.14 – Mediana da intensidade dos picos antes e após a irradiação. Dose Única – Dentina Coronária.

Intensidade	Espectro (cm^{-1})							
	PO ν_2	PO ν_4	PO ν_1	PO ν_3	Amida III	$\text{CH}_3\text{-CH}_2$	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
Antes	2240	2373	10144	2509	1008	3015	2102	17719
Depois	2843	2699	13689	3229	1254	3329	2459	25897
#	603	325	3545	719	245	314	356	8178
%	27	14	35	29	24	10	17	46
p-valor [‡]	0,0593	0,1141	0,0093	0,0166	0,0367	0,0284	0,2845	0,0069

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

As mudanças na posição dos picos também foram bastante significativas para as bandas do fosfato em ν_2 , ν_1 e ν_3 , com $p = 0,005$, $0,012$ e $0,028$, respectivamente. Na fase orgânica a banda em 2946 cm^{-1} também sofreu alterações significativas, tendo $p = 0,037$ (Tabela 4.15).

Na comparação dos efeitos da radiação em dose única e fracionada de 70 Gy sobre a dentina coronária pela intensidade e posição das bandas, não há dúvida que os danos da radiação em dose única são bem mais acentuados. Provavelmente o esmalte, com sua estrutura altamente cristalina, não consegue evitar que o calor, produzido pelas altas energia dos fótons de 6 MeV durante o longo tempo de aplicação, se propague para a dentina coronária, causando

danos bem notáveis. Nas doses fracionadas, embora também com altas energias dos fótons, porém, por um tempo bem mais reduzido de aplicação, o esmalte consegue amenizar os danos da radiação à dentina coronária.

Tabela 4.15 – Mediana da posição dos picos antes e após a radiação. Dose Única; Dentina Coronária.

Posição	Espectro (cm^{-1})							
	PO ν_2	PO ν_4	PO ν_1	PO ν_3	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
Antes	437	587	959	1053	1269	1454	1654	2947
Depois	434	587	960	1056	1267	1453	1658	2946
#	-3	0	1	3	-2	0	4	-1
p-valor [‡]	0,005	0,878	0,012	0,028	0,059	0,169	0,799	0,037

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

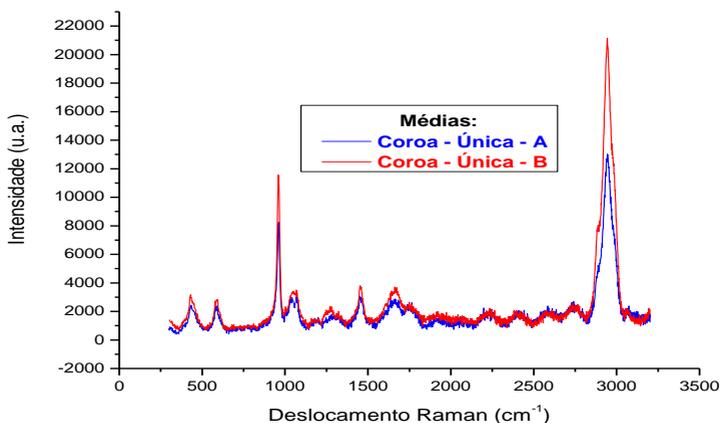


Figura 4.9 – Média dos espectros Raman da dentina coronária antes e depois de serem irradiados - Dose única.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A **dentina cervical** irradiada com dose única teve um aumento na intensidade de pico estatisticamente significativas para todas as bandas ($p = 0,007$), conforme mostra a tabela 4.16, com uma porcentagem bastante alta entre a diferença da média da intensidade, antes e após as amostras terem sido irradiadas. As mudanças foram significativas na posição dos picos na banda em 435 cm^{-1} com $p = 0,008$ e na banda em 960 cm^{-1} , com $p = 0,021$ (Tabela 4.17). A figura 4.10 mostra a média dos espectros da dentina cervical, antes e depois de irradiados com dose única de 70 Gy.

Tabela 4.16 – Mediana da intensidade dos picos antes e após a irradiação. Dose Única – Dentina Cervical.

Intensidade	Espectro (cm^{-1})							
	PO ν_2	PO ν_4	PO ν_1	PO ν_3	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
Antes	1323	1270	6523	1534	900	1940	1690	14097
Depois	3088	2792	13208	3579	1838	3917	3301	29898
#	1764	1522	6684	2044	938	1977	1611	15800
%	133	120	102	133	104	102	95	112
p-valor [‡]	0,0077	0,0077	0,0077	0,0077	0,0077	0,0077	0,0077	0,0077

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4.17 – Mediana da posição dos picos antes e após a radiação. Dose Única; Dentina Cervical.

Posição	Espectro (cm ⁻¹)							
	PO v ₂	PO v ₄	PO v ₁	PO v ₃	Amida III	CH ₃ -CH ₂	Amida I	C-H
	435	587	959	1052	1271	1455	1653	2946
Antes	437	587	959	1053	1269	1454	1654	2947
Depois	434	587	960	1056	1267	1453	1658	2946
#	-3	0	1	3	-2	0	4	-1
p-valor [‡]	0,008	0,678	0,021	0,374	0,767	0,374	0,374	0,214

‡: Teste de Wilcoxon –

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

Este acentuado aumento na intensidade de todos os picos da dentina cervical, quando submetida à dose única de 70 Gy, parece ter como possível explicação a perda acentuada da porção orgânica, e/ou fragmentação das demais moléculas que ali permaneceram, passando a ter vibração mais livre.

No entanto os resultados deixam claro que, após a exposição à dose única de 70 Gy, os picos orgânicos ainda são bem intensos (Figura 4.16), sendo notório que o conteúdo orgânico permanece na região analisada. Isto contradiz radicalmente PAOLI et al (2008), que afirmam que a dose total aplicada de uma só vez é mortal tanto para as células tumorais quanto para as sadias.

Mesmo que essas altas doses únicas de radiação não sejam usadas como rotina na radioterapia, seus efeitos sobre as estruturas duras dos dentes devem continuar a serem estudadas, pois possibilitam, pela comparação entre as diferentes doses de radiação, um maior entendimento dos processos físicos e químicos, e os limites dos efeitos das doses usadas.

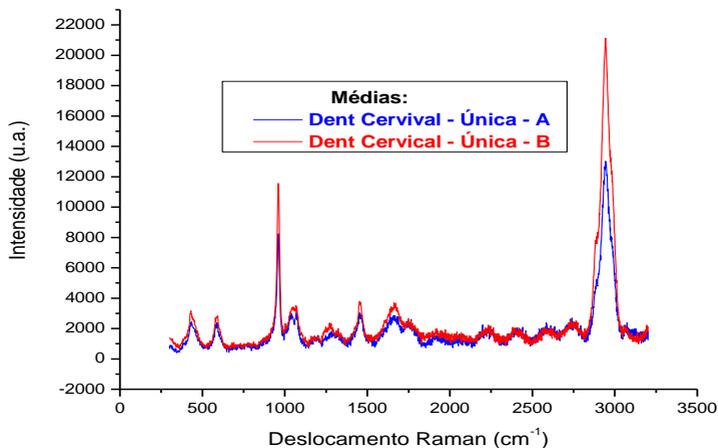


Figura 4.10 – Média dos espectros Raman da dentina cervical antes e depois de serem irradiados com dose única de 70 Gy.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2 ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA

As medidas de difusividade térmica foram realizadas por meio da técnica de PA, em uma configuração de transmissão de calor. Após a aquisição das medidas, estas foram tratadas pelos métodos propostos na apresentação da metodologia (capítulo 3), obtendo-se os resultados da difusividade térmica de todas as 18 amostras, antes e depois de serem irradiadas.

A figura 4.11 mostra os valores das difusividades das amostras que foram submetidas à irradiação de 70 Gy, em doses diárias fracionadas de 2 Gy (grupo CDF), para o esmalte, dentina coronária e dentina cervical, antes e após a irradiação.

DOSE FRACIONADA						
$10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$						
Amostra	Pré – Irradiação			Pós– Irradiação		
	Esmalte	Coroa	Cerv	Esmalte	Coroa	Cerv
02b	4,5	2,7	3,0	2,3	1,0	1,0
07b	4,2	2,8	2,8	3,0	Null	1,1
09b	4,3	2,8	2,9	2,7	1,9	1,2
11b	4,5	2,8	2,6	2,2	2,0	1,0
13b	null	2,6	3,3	2,1	1,5	1,2
15	4,1	2,8	2,9	1,3	1,0	1,2
18b	3,9	2,6	2,8	2,2	2,0	0,8
21	3,9	2,5	2,7	2,1	1,5	1,3
23	4,0	2,9	3,0	2,8	1,8	1,1
25b	null	2,8	3,0	1,3	1,3	1,7
MÉDIA	4,2 ± 0,9	2,7 ± 0,8	2,9 ± 0,6	2,2 ± 0,9	1,6 ± 0,9	1,2 ± 0,9

Figura 4.11 – Valores da difusividade térmica do grupo CDF para o esmalte, dentina coronária e dentina cervical, antes e após a irradiação. Com dose de 70 Gy, fracionada em 2 Gy diários. Nas células em destaques a α foi obtida pelo método de Balderas.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os valores das difusividades das amostras do grupo CDU (dose única), antes e após a irradiação de 70 Gy, no esmalte, dentina coronária e dentina cervical, são apresentados na figura 4.12

Todos os valores da difusividade térmica dos dois grupos, antes de serem irradiados, e obtidos pelo OPC, encontram-se dentro dos limites apresentados na literatura. As amostras que apresentaram no esmalte ou nas dentinas, antes de serem irradiadas, algum valor de α discrepante ao que é apresentado na literatura (CRAIG; PEYTON, 1961; BRADEN, 1964; PANAS et al., 2003), foram eliminados. Os

resultados, após a irradiação, que não estavam dentro dos valores médios apresentados neste experimento, também foram excluídos. Esta exclusão se deu por acharmos que os valores destoantes, que se apresentaram fora da média, devem ter ocorrido por erros cometidos durante a tomada das medidas.

DOSE ÚNICA						
$10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$						
Amostra	Pré – Irradiação			Pós– Irradiação		
	Esmalte	Coroa	Cerv	Esmalte	Coroa	Cerv
3	3,8	2,7	2,2	2,7	1,4	0,8
5	5,1	2,3	2,5	2,7	1,9	1,3
07a	4,6	2,6	2,5	2,9	1,9	1,8
09a	4,8	2,3	2,4	3,0	1,7	1,1
11a	null	2,9	3,0	2,4	2,0	1,5
13a	null	2,1	2,8	2,6	1,0	1,8
18a	4,1	2,1	2,2	2,6	1,0	1,0
20	3,0	1,9	1,9	1,8	0,9	0,8
25a	4,3	2,6	2,5	2,4	2,0	1,3
27	3,7	2,0	2,3	2,0	1,1	1,3
MÉDIA	4,2 ± 0,9	2,3 ± 0,8	2,4 ± 0,6	2,6 ± 0,9	1,6 ± 0,9	1,3 ± 0,9

Figura 4.12 – Valores da difusividade térmica para as amostras do grupo CDU para o esmalte, dentina coronária e dentina cervical, antes e após a irradiação. Nas células em destaques a α foi obtida pelo método de Balderas.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Pela tabela 4.18 compara os valores das medianas da difusividade térmica para o esmalte, dentina coronária e dentina cervical dos dois

grupos – CDF e CDU, antes de serem irradiadas. Nota-se que ambos apresentam praticamente os mesmos valores para o esmalte, mas diferem um pouco mais acentuadamente para as duas localizações da dentina. Isso confirma os dados obtidos na espectroscopia Raman, de que as amostras não são homogêneas, embora se tenha tentado fazê-las as mais semelhantes possíveis. Assim comprova-se que as diferenças encontradas na intensidade dos picos na análise química pelo Raman repercutem em diferenças físicas entre as amostras, como é comprovado pela diferença na difusividade dos dois grupos dada pela espectroscopia fotoacústica. Essas diferenças são vindas provavelmente da presença de uma maior ou menor quantidade da fase orgânica, aumentando ou diminuindo o livre caminho médio.

O que não era esperado é que o valor da difusividade da dentina cervical fosse mais alto do que a dentina coronária. Sabe-se que a dentina apresenta poros que são atribuídos aos túbulos dentinários e também pequenos poros que emanam dos túbulos, e que estes estão diretamente relacionados à densidade da estrutura, ou seja, quanto menor a densidade, maior a quantidade de poros (RODRIGUEZ, 2000; MAGALHAES et al., 2008). Pelas diferenças na morfologia da dentina coronária e cervical, em que a presença dos túbulos dentinários na porção cervical é maior por área, a região cervical deveria ter menor densidade e maior número de poros. Assim, era de se esperar que a difusividade na dentina cervical fosse menor do que na dentina coronária, o que não foi confirmado em nossos resultados.

Tabela 4.18 – Média dos valores da difusividade térmica dos grupos CDF e CDU antes de serem irradiados.

Grupos	$10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$		
	Esmalte	Dentina Coronal	Dentina Cervical
CDF	$4,2 \pm 0,7$	$2,7 \pm 0,4$	$2,9 \pm 0,6$
CDU	$4,2 \pm 2,0$	$2,3 \pm 1,0$	$2,4 \pm 0,9$

Fonte: Elaborada pelo autor.

A tabela 4.19 mostra a média dos valores da difusividade obtida antes e após a irradiação para o grupo CDF, que foram irradiados com

doses fracionadas e, na tabela 4.20, encontra-se a média dos valores para o grupo CDU, antes e depois de serem irradiados em dose única.

Tabela 4.19 – Média das medidas de difusividade térmica das amostras dentais do grupo CDF antes e após a irradiação.

CDF	$10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$		
	Esmalte	Dentina Coronal	Dentina Cervical
Antes	4,2	2,7	2,9
Depois	2,2	1,6	1,2
#	1,9	1,1	1,7
%	46	42	59

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os resultados apresentados na tabela 4.19 não deixam dúvidas que a irradiação do dente com dose de 70 Gy, fracionada em 2 Gy diários, causa mudanças substanciais na difusividade do esmalte e dentina. A redução para as três regiões analisadas foram bastante acentuadas tanto para o esmalte (46%) quanto para a dentina coronária (42%) e dentina cervical (59%). Na comparação entre a dentina coronária e cervical fica também bastante claro que a irradiação fracionada é bem mais danosa à dentina cervical, possivelmente por não ter o esmalte a envolvê-la, recebendo a ação direta dos raios X, e por ter um conteúdo maior de material orgânico. Como visto anteriormente, é provável que a radiação tenha causado uma maior quantidade de quebras ou perdas das moléculas orgânicas, formando mais poros nesta dentina do que na dentina coronária.

Rodrigues et al (2000), em trabalho medindo a difusividade térmica em hidroxiapatita, osso e biomateriais, relatam que as propriedades térmicas dos materiais porosos dependem, além da sua estrutura, do grau de porosidade. Se ocorreu aumento de poros por quebra de moléculas orgânicas ou perda de porção de fase orgânica, o maior percentual de redução da difusividade ter ocorrido na dentina está justificado.

Magalhães et al (2008) mediram a difusividade térmica de cinco dentinas humanas pelo método *Flash laser* e também constataram que existe uma forte correlação entre a porosidade existente na dentina, densidade e condutividade térmica.

Nesse experimento não tivemos uma preocupação com as direções dos canalículos dentinários e nem com os prismas de esmalte nas regiões em que foram tomadas as medidas para o cálculo da difusividade, mas, segundo Magalhães et al (2008), aparentemente, a direção dos túbulos dentinários não influencia na difusividade e na condutividade térmica de dentina humana.

Quanto ao esmalte, era de se esperar que devido à ação direta da radiação, e por ter uma pequena quantidade de orgânicos, a redução da difusividade também ocorresse, porém que não fosse tão acentuada. Não se conseguiu encontrar uma explicação que justificasse, pela presença de quebra molecular, ou perda de porção orgânica, a acentuada redução da difusividade do esmalte em relação à dentina cervical, se correlacionar a proporção de fração orgânica e inorgânica de ambos.

Tabela 4.20 – Média das medidas de difusividade térmica das amostras dentais do grupo CDU antes e após a irradiação.

CDU	$10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$		
	Esmalte	Dentina Coronal	Dentina Cervical
Antes	4,2	2,3	2,4
Depois	2,6	1,5	1,3
#	1,5	0,7	1,1
%	37	32	46

#: Diferença

Fonte: Elaborada pelo autor.

Similar aos resultados obtidos com o grupo dental submetido à dose de 70 Gy, fracionada em doses diárias de 2 Gy, no grupo dental submetido à dose única de 70 Gy, as três região dentais também sofreram uma redução acentuada na difusividade térmica. A redução foi

de 37, 32 e 46 %, respectivamente para o esmalte, dentina coronária e dentina cervical (Tabela. 4.20).

A relação de redução da difusividade nas amostras submetidas à dose única foi similar as apresentadas na dose fracionada.

No entanto, pela maior redução da difusividade encontrada nesta fase experimental, a dentina cervical é a que sofre mais alterações quando submetida à dose fracionada de 70 Gy, em dose de 2 Gy diários (Tabela 4.19), o que está em desacordo com a espectroscopia Raman, para cujo resultado não encontramos uma explicação plausível.

A dentina coronária e cervical, dos dois grupos (CDF e CDU), antes de serem irradiadas, tiveram valores da difusividade próximos, com a difusividade da dentina cervical sendo levemente maior do que a coronária. Entretanto, após a irradiação, os valores se invertem, passando a dentina cervical a ter valores de difusividade menores do que a coronária, demonstrando claramente que as alterações na difusividade térmica são mais acentuadas na dentina cervical.

Como a literatura não contempla estudos comparativos de difusividade térmica em dentes humanos submetidos a doses de radiação X, ou com ^{60}CO , não podemos fazer paralelo com outros trabalhos. Isso torna nosso trabalho bastante relevante, pois estamos contribuindo com dados científicos para o conhecimento dos processos de transferência de calor em dentes de pacientes submetidos à radiação X, no tratamento do CCP.

Outro fator que podemos analisar é a variação dos valores da difusividade das amostras dos grupos CDF e CDU. Segundo Pereira (2009), a variação da difusividade térmica da dentina é maior do que a do esmalte porque o percentual em peso de água e material orgânico é muito maior na dentina do que no esmalte. No entanto, nesse experimento, a variação da difusividade do grupo CDF, antes de ser irradiado, foi maior para o esmalte do que para as dentinas (coronal e cervical), conforme mostra o desvio padrão na tabela 4.21. Depois que este grupo foi irradiado, houve um aumento substancial do desvio padrão para o esmalte e para a dentina coronária, e discreto para a dentina cervical.

Tabela 4.21 – Desvio padrão das medianas dos valores da α dos grupos CDF, antes e após a irradiação.

CDF	$10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$		
	Esmalte	Dentina Coronal	Dentina Cervical
Antes	0,25	0,13	0,20
Depois	0,56	0,38	0,23

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4.22 – Desvio padrão das medianas dos valores da α dos grupos CDU, antes e após a irradiação.

CDF	$10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$		
	Esmalte	Dentina Coronal	Dentina Cervical
Antes	0,68	0,33	0,32
Depois	0,38	0,47	0,36

Fonte: Elaborada pelo autor.

Se houve perda de porções da fase orgânica ou alteração nas ligações moleculares, o que poderia ser esperado pela redução dos valores da difusividade após a irradiação para as três regiões analisadas, o aumento da variação da difusividade não deveria ter ocorrido, o que necessita de análise complementar para esclarecer este fato. Parece realmente não ter uma relação definida, pois para o grupo CDU (Tabela 4.22), a variação do valor da difusividade do esmalte foi bem maior do que a das dentinas e, após serem irradiadas, houve uma redução do desvio padrão para o esmalte, mas um aumento para as dentinas. Até mesmo a dentina cervical (grupo CDU), antes de ser irradiada, que deveria ter uma variação maior da difusividade, por seu maior conteúdo de material orgânico em relação à dentina coronária, apresentou praticamente o mesmo valor do desvio padrão. Os resultados na variabilidade das medidas da difusividade neste trabalho não apresentaram nenhuma relação lógica com a quantidade e organização do conteúdo orgânico presente nas estruturas analisadas.

A acentuada redução da difusividade após a irradiação dos dentes no tratamento dos CCP deve ser bastante considerada, quando do tratamento das reconstituições dentais e outros procedimento em que se emprega o calor para polimerização dos materiais, ou mesmo para aumentar a eficiência de produtos usados na prática odontológica.

4.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Como mencionado no capítulo 3, as amostras do grupo FDF e FDU foram caracterizadas por MEV, seguindo procedimentos descritos naquele capítulo. As metades especulares de cada amostra do grupo FDF foram irradiadas com dose de 70 Gy, fracionadas em 2 Gy diários. As metades do grupo FDU foram irradiadas com dose única de 70 Gy.

Todas as amostras (grupos FDF e FDU), antes e após irradiadas, foram analisadas em aumento de 2.000, 5.000, 10.000 e 20.000 x. As imagens foram analisadas qualitativamente pelas modificações morfológicas no esmalte, dentina coronária e dentina cervical.

Os principais problemas causados com a deposição de grande quantidade de energia nas estruturas dentais são traduzidos em danos térmicos periféricos das estruturas, danos pulpares pela transferência do excesso de calor, carbonização dos tecidos e fraturas/trincas no esmalte e dentina. Portanto, nessa análise qualitativa nos concentramos em analisar a presença dessas alterações. Assim, os resultados foram decorrente da comparação com sua respectiva porção controle, não irradiada. Para melhor comparação e diferenciação, principalmente da presença de fibras de colágeno e análise das microtrincas, o aumento de 5.000 e de 10.000 x para a visualização das alterações foi o mais utilizado para a interpretação das imagens.

4.3.1 Esmalte e Dentinas irradiadas com Doses Fracionadas

As amostras de **esmalte** irradiadas com doses fracionadas não mostraram alterações quando comparadas com sua porção controle, como pode ser observado na figura 4.13.

Pimentel (2005) analisou o efeito da radiação em esmalte com dose de 20, 40 e 60 Gy pelo MEV. Concluiu haver perda de substancia

prismática, mas não deixou claro em que dose e nem as características usadas para a análise comparativa.

MacCormack et al (1995), em estudo sobre o efeito do *laser* de CO₂ no esmalte analisando micrografias com aumento de até 60.000 x, define alterações semelhantes à fusão dos cristais de esmalte. Em temperaturas acima da temperatura de fusão, os cristais fundem-se formando uma massa sólida, que é dependente do teor de matéria orgânica e mineral presentes na composição da estrutura danificada. Como foi comentado anteriormente, a produção de calor produzida pelo *laser* é muito mais acentuada que o aquecimento do material provocado pela radiação, o que inviabiliza uma comparação com nosso estudo.

Pereira (2003) relata em seu estudo que o aspecto de fusão pode ser proveniente do derretimento do material orgânico presente no esmalte. Mesmo que a radiação produzisse aquecimento suficiente para a fusão da matéria orgânica no esmalte, esta é tão discreta que seriam necessárias ampliações bem maiores para visualizá-las. Portanto, para detectar possíveis alterações morfológicas no esmalte, semelhante às descritas acima, precisaria de aumentos bem maiores que os produzidos nesse experimento.

A presença de trincas nas amostras de esmalte, antes de serem irradiadas, foi raramente perceptível, não ocorrendo aumento aparente em seu número, após a radiação, que pudesse gerar uma possibilidade de ter sido causada pela radiação.

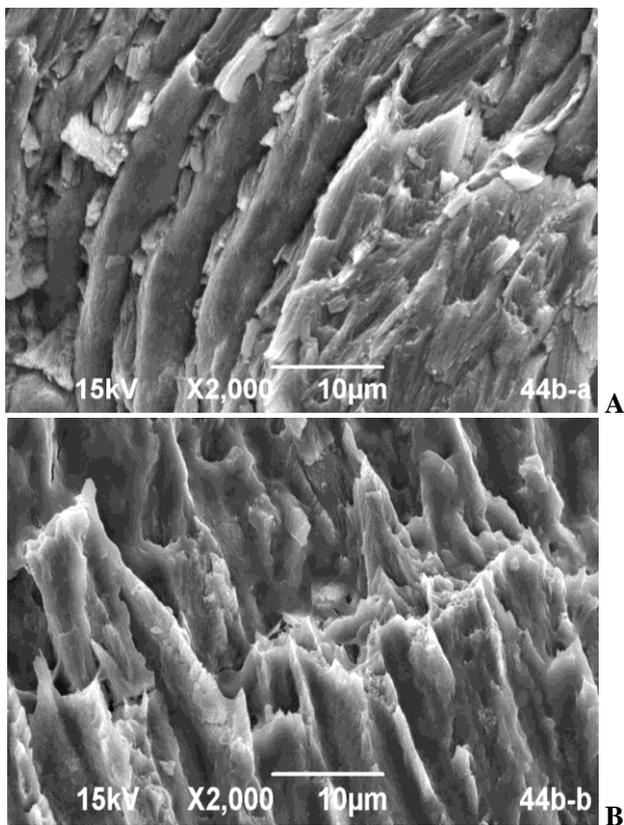


Figura 4. 13 – Fotomicrografia de esmalte da amostra 44b. A – Antes de ser irradiado. B – depois de ser irradiado – Dose fracionada.
Fonte: Elaborada pelo autor.

As dentinas coronárias e cervicais, irradiadas com dose fracionada, também não apresentaram alterações morfológicas que caracterizassem mudanças produzidas pela radiação, além da aparente redução das fibras de colágeno, conforme pode se comprovado na figura 4.14.

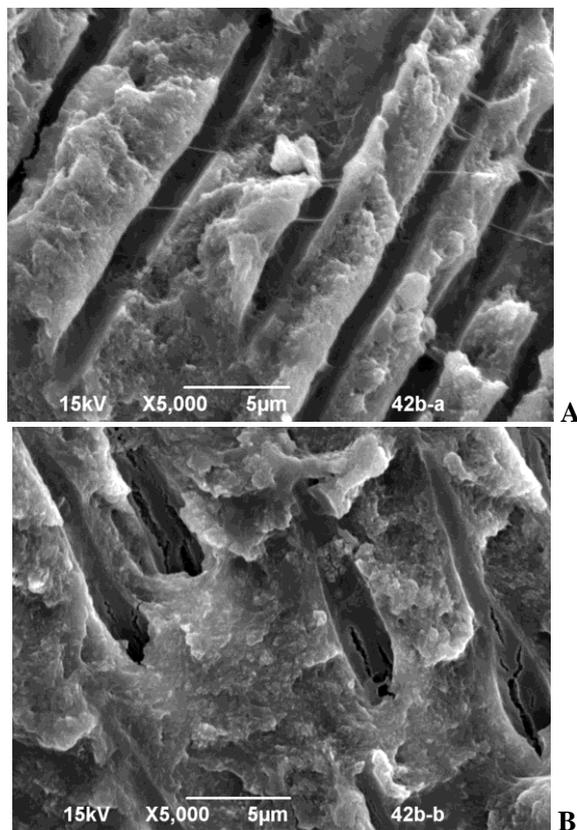


Figura 4. 14 – Fotomicrografia da dentina coronária da amostra 42b. A – Antes de ser irradiado. B – Após irradiação de dose de 70 Gy fracionada em 2 Gy diários.
Fonte: Elaborada pelo autor.

De maneira geral, as aparentes mudanças no número de microtrincas, e a redução da largura das microtrincas, que poderia ser esperada como resultado da radiação, não pode ser comprovada, pois a quantidade que foi produzida na fratura do dente, visualizada nas amostras não irradiadas, foi bastante similar à encontrada após a irradiação da amostra. Destacamos o baixíssimo número de trincas presentes na dentina intercanalicular e o alto número presente na dentina peritubular em todas as amostras, antes e após a irradiação (Figuras 4.15). Assim, as características apresentadas pelas trincas não

permitiram fazer distinção entre as provenientes da fratura dentária e as possíveis trincas provocadas pela radiação.

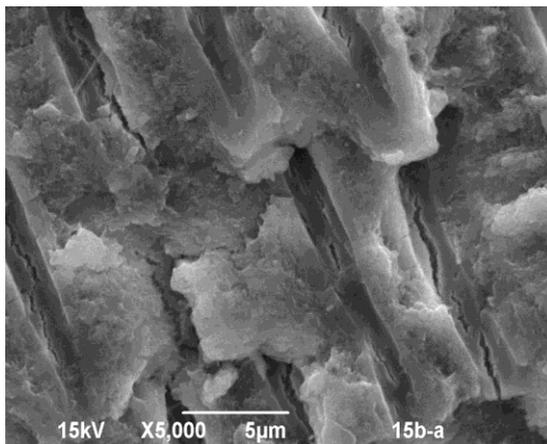


Figura 4. 15 – Fotomicrografia da dentina coronária da amostra 15b-a, antes de ser irradiada.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.3.2 Esmalte e Dentinas irradiadas com Dose Única

O esmalte das amostras irradiadas com dose única de 70 Gy, o que não é aplicada na prática comum da radioterapia, apresentou um padrão topográfico bastante semelhante ao grupo controle, como mostra a figura 4.16.

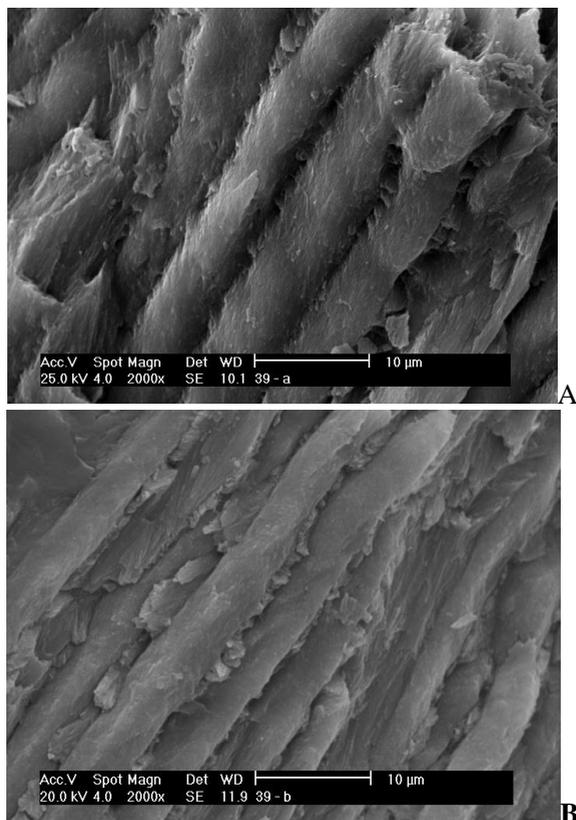


Figura 4.16 – Fotomicrografia de esmalte da amostra 39.
A – Antes de ser irradiado. B – Depois de irradiado – Dose Única.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Na maioria das amostras, a dentina coronária irradiada com dose única manteve a morfologia similar a porção não irradiada, como pode ser observado na figura 4.17. Poucas amostras, no entanto, apresentaram alterações na sua morfologia quando comparada com sua porção especular não irradiada.

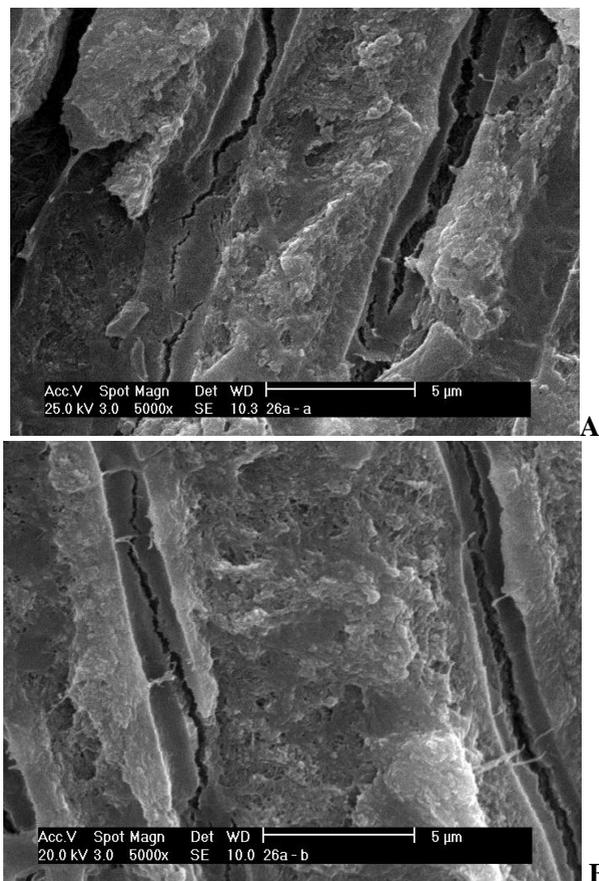


Figura 4. 17 – Fotomicrografia da dentina coronária da amostra 26a.
A – Antes de ser irradiado. B – Após irradiação com dose única - Sem significativas alterações morfológicas.
Fonte: Elaborada pelo autor.

As amostras de dentina coronária que apresentaram modificação, após a irradiação com dose única, pareceram mostrar um aspecto topográfico semelhante ao relatado por MacCormack et al (1995). Ele apresenta, como um dos efeitos do *laser*, o deslocamento de fragmentos do material para a superfície, que é conhecido como “esfoliação sputtering”. A ocorrência desse efeito é mais usual em sistemas de alto estresse térmico, sendo afetado pela absorção e relaxamento térmico do material. Como a dentina não é boa condutora de calor, quando está sob a ação de altas energias que aumentam consideravelmente a vibração

das moléculas, com alta produção de calor e por tempo prolongado, pode levar ao rompimento de ligações moleculares em diferentes planos de profundidade da amostra. Isso ocorre pelas diferenças no coeficiente de expansão térmico da estrutura. As temperaturas são altas, mas não chegam à temperatura de fusão, o que passaria a ser representado pelo aspecto de derretimento da superfície. Aspecto semelhante ao relatado como “esfoliação sputtering” pode ser observado na figura 4.18.

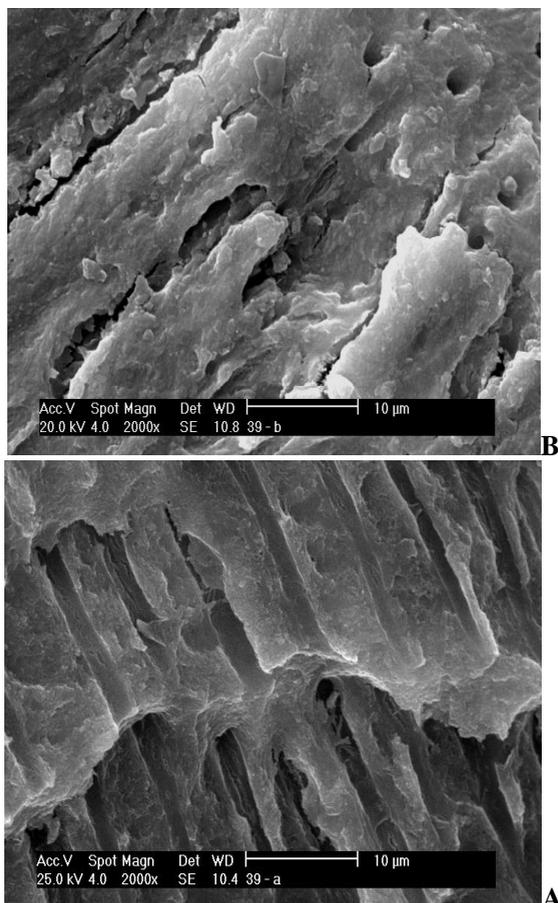


Figura 4.18 – Fotomicrografia da dentina coronária da amostra 39.

A - Aspecto da dentina coronária antes da amostra ser irradiada. B - Após a irradiação com dose única. Aspecto semelhante a lascas da superfície sendo deslocadas.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A dentina cervical apresentou aspecto de normalidade, semelhante ao controle. Os canais dentinários apresentaram-se com contorno semelhante aos da porção não irradiada, onde é possível observar ainda a presença de fibras colágenas como mostra a figura 4.19.

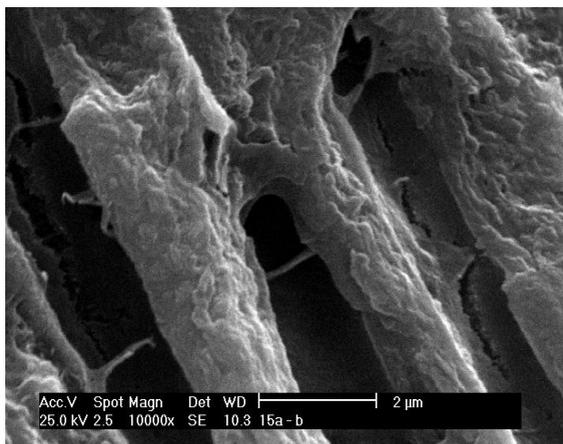


Figura 4.19 – Fotomicrografia da dentina cervical da amostra 15a após irradiação com dose única. Presença de fibras colágenas e aspecto topográfico semelhante à dentina normal, não irradiada.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Mesmo tendo este experimento sido *in vitro*, os resultados de alteração topográfica do esmalte, dentina coronária e cervical irradiados com dose única, e com dose fracionada de 70 Gy, que é o usado na prática do tratamento de pacientes com CCP, não foram evidenciados pelo MEV. O posicionamento dos dentes no fantoma (Figura 3.19), com sua face de análise diretamente exposta à radiação X, não nos impediu de fazer uma comparação relativa com as demais caracterizações efetuadas neste trabalho, onde as regiões analisadas encontravam-se em posição interna no dente, sempre protegidas por uma determinada espessura de tecido dental.

Para que em futuros trabalhos, a porção lingual dos dentes dos grupos que sofreram corte possa ser utilizada para as avaliações

topográficas, na mesma metodologia empregada com as demais porções do dente (análises Raman e PAS), antes e depois da serem irradiados, faz-se necessário o emprego de microscopia de baixa tensão e alto vácuo, e a remoção do *smear layer* (lama dentinária produzida na superfície da amostra quando o dente está sendo desgastado) sem que afete a estrutura dental a ser analisada.

5 DISCUSSÃO FINAL

Este estudo apresentou espectros Raman típicos para o esmalte e dentina humana em todas as amostras antes de serem irradiadas, e foi capaz, pela mudança na intensidade dos picos, de diferenciar regiões dentais correspondentes à dentina coronária e dentina cervical. Isso também foi válido para a espectroscopia fotoacústica, que apresentou valores de difusividade térmica de esmalte e dentina, antes das amostras serem irradiadas, dentro da média relatada pela literatura. A análise microscópica do esmalte e dentina, em diversos aumentos, também mostrou aparência morfológica de esmalte e dentina sadia, antes de serem irradiados, e adequados em mostrar as mudanças topográficas após as diferentes formas de irradiação.

Enfim, os resultados contemplados pela espectroscopia Raman e Fotoacústica dos efeitos da radiação X em dose total de 70 Gy, fracionada em doses diárias de 2 Gy, nos permite afirmar que significantes danos são produzidos no esmalte, dentina coronária e cervical, que podem repercutir diretamente na fragilização destas estruturas à ação dos ataques ácidos presentes no processo de inicialização da cárie.

A microscopia Raman evidenciou alterações significativas no esmalte irradiado diariamente com doses fracionadas de 2 GY, comprovados, principalmente, na sua porção orgânica, com mudanças na intensidade dos picos. Parece-nos não haver dúvidas que ocorre uma perda da parte proteica do esmalte, o que é relatado na literatura como fator de “facilidade” para a instalação da cárie. A repercussão dessas modificações estruturais do esmalte, após a irradiação, foi confirmada pelo PAS em alterações físicas, causando redução da sua difusividade.

Os danos da radiação fracionada na dentina coronária e cervical também foram bem demonstrados pelo Raman, sendo mais acentuados na dentina cervical, possivelmente por não ter o esmalte para absorver parte da radiação, recebendo diretamente toda a energia do feixe de raios X. Esses danos ocorreram, também, por provável perda da porção orgânica na dentina cervical que, por formação, já apresenta uma maior proporção de fase orgânica em relação à dentina coronária. A redução da difusividade é possível consequência da redução dos constituintes orgânicos, o que resulta em aumento na quantidade de vazios, tornando a dentina mais porosa.

Frente a esses resultados tem-se que questionar se o fator de maior responsabilidade para o estabelecimento das chamadas cáries de

radiação na região cervical do dente não está justamente na ocorrência da acentuada perda da porção orgânica pela dentina, e não na redução da saliva como é divulgado pela maioria dos artigos revisados no capítulo 2. A rapidez de propagação da cárie de radiação pode estar associada á profundidade que a radiação danifica a dentina.

Estudos futuros que analisem esses danos, por toda a profundidade da dentina, trariam grande contribuição para o esclarecimento deste questionamento.

Também não se pode deixar de considerar a possibilidade da irradiação ter alterado a estrutura da fase mineral, quando as dentinas foram irradiadas com doses fracionadas de 70 Gy. Com certeza, estudos mais precisos das bandas, como cálculo da área e análise das larguras da base das bandas, poderiam fundamentar melhor esta hipótese.

Ao analisar e comparar os resultados obtidos na difusividade térmica do esmalte e principalmente da dentina, concluímos que os valores médios obtidos nos resultados não devem ser utilizados como um guia prático nos procedimentos operacionais que produzam calor, pois a variação nos resultados indica que as propriedades térmicas variam significativamente de acordo com o doador e os dentes da amostra, entre tantos outros fatores, como a idade do indivíduo e anatomia do dente. Portanto, a fim de realizar procedimentos seguros, uma abordagem mais conservadora deve ser realizada com relação à quantidade de calor aplicada aos dentes em procedimentos odontológicos.

Esses cuidados devem ser redobrados quando da reconstituição de dentes de pacientes submetidos à radioterapia, pois a redução na difusividade térmica implica na redução da condutividade térmica. Na prática, este aumento do tempo para que o calor aplicado externamente alcance as estruturas internas do dente, onde repercute como dor pelos tecidos nervosos, e é sentido pelo paciente, é retardado em aproximadamente 50%. Isso pode levar ao uso excessivo de calor sobre a estrutura dental, causando-lhe danos, e também à ampliação do tempo de dissipação do calor, permanecendo como sensação dolorosa por mais tempo.

Assim, as três formas de caracterização do esmalte, dentina coronária e dentina cervical mostraram que a irradiação usada no tratamento do CCP produz graus variados de alterações estruturais e microestruturais nas três regiões analisadas, que não puderam ser totalmente esclarecidas neste trabalho, necessitando de análises mais específicas em futuros estudos.

6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Este estudo permitiu que através da espectroscopia Raman, espectroscopia fotoacústica (OPC) e microscopia eletrônica de varredura pudesse se caracterizar as alterações químicas e estruturais do esmalte, dentina coronária e dentina cervical em dentes submetidos à ação da radiação X, fornecida por um LINAC, em dose fracionada equivalente à utilizada para tratamento do CCP.

Os resultados comparativos obtidos através das análises de caracterização empregados neste estudo nos permitem concluir que:

- A espectroscopia Ramam mostrou-se uma ferramenta altamente sensível à composição química das estruturas dentais (esmalte e dentina), possibilitando a diferenciação entre a dentina coronária e a dentina cervical, pela análise da variação na intensidade das bandas, principalmente às da fase inorgânica;

- A espectrometria fotoacústica, em configuração de célula aberta, mostrou-se capaz de determinar os valores de difusividade térmica do esmalte e dentina, e entre dentinas em diferentes localizações dental;

- A microscopia eletrônica de varredura não se mostrou eficaz para a análise das alterações morfológicas em dentes submetidos à radioterapia com ampliações de até 10.000 x.

- As doses fracionadas de 70 Gy causaram alterações mais significativas no esmalte do que a dose única de 70 Gy, principalmente na sua fase orgânica;

- As alterações à dentina coronária, após a irradiação em doses fracionadas, foram significativamente menores do que as causadas pela dose única;

- A dentina cervical foi a região dental que sofreu as maiores alterações estruturais, quando as amostras foram irradiadas com doses fracionadas;

- A metodologia e as caracterizações usadas neste trabalho não permitiram fazer uma correlação entre os efeitos da radiação utilizada no tratamento de CCP com cárie de radiação;

Por ser este, até a presente data, o único estudo que empregou como parte dos procedimentos experimentais, uma metodologia em que as análises das amostras são efetuadas na mesma região dental, antes e depois de serem irradiadas, e por conseguir manter a conformação dental semelhante à original para ser irradiada, pode ser considerado

como um guia de metodologia na caracterização química, física e estrutural dos tecidos dentais duros. Portanto, a metodologia empregada neste trabalho possui caráter de ineditismo.

Embora não estivesse entre os objetivos deste estudo esclarecer os processos biológicos e químicos responsáveis pelas alterações estruturais e morfológicas apresentadas, esperamos que estudos futuros venham a esclarecê-los, e acreditamos ter contribuído com informações úteis para novas abordagens sobre este controverso assunto.

Espera-se que as pesquisas científicas vinculem as diversas áreas da ciência na obtenção de maiores esclarecimentos sobre os efeitos da radioterapia nos tecidos dentais, para que as sequelas e efeitos colaterais pós-irradiação possam ser evitados ou, ao menos, minimizados. Se os provedores da saúde dental e médicos trabalharem juntos com as ciências básicas, e estiverem cientes que os indivíduos com câncer de cabeça e pescoço necessitam de cuidados e de instruções específicas orais, de protocolos preventivos e curativos para os cuidados dos dentes, estarão, certamente, contribuindo para o aumento da qualidade de vida desses pacientes.

REFERÊNCIAS

AL-NAWAS, B. et al. Using Ultrasound Transmission Velocity to Analyse the Mechanical Properties of Teeth After In Vitro, In Situ, and In Vivo irradiation. **Clinical Oral Investigations**, v. 4, n. 3, 2000. p. 168-172.

ANUSAVICE, K. J. **Philips**: materiais dentários. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

ARAMBAWATTA, K.; PEIRIS, R.; NANAYAKKARA, D. Morphology of the Cemento-Enamel Junction in Premolar Teeth. **J Oral Sci.**, v. 51, n. 4, 2009. p. 623-627.

BALDERA-LÓPEZ, J. A. et al. Thermal Characterization of Some Dental Resins Using the Photoacoustic Phase Lag Discontinuities. **Superficies y Vacío**, v. 8, 1999. p. 42-45.

BOWES, J. H.; MURRAY, M. M. The Chemical Composition of Teeth.II. The composition of Human Enamel and Dentine. **Biochem J.**, v. 29, n. 12, 1935. p. 2721-2727.

BRADEN, M. Heat Conduction in Teeth + Effect of Lining Materials. **J Dent Res.**, v. 43, n. 3, 1964. p. 315-322.

BRADEN, M. Physics in Dentistry. **Phys Technol.**, v. 16, 1985. p. 58-62.

CAMERLINGO, C. et al. Er:YAG Laser Treatments on Dentine Surface: Micro-Raman Spectroscopy and SEM Analysis. **Journal of Dentistry**, v. 32, 2004. p. 399-405

COLOIANO, E. C. R. et al. Photoacoustic Analysis of Dental Resin Polymerization. **J. Phys. IV France**, n. 125, 2005. p. 793-795.

CRAIG, R. G.; PEYTON, F. A. Thermal Conductivity of Tooth Structure, Dental Cements, and Amalgam. **J Dent Res.**, v. 40, n. 3, 1961. p. 411-418.

EL-BROLOSSY, T. A. S. et al. Photoacoustic and Electron Microscopic Studies of Remineralized Artificially Carious Enamel and Dentin. **Phys. IV France**, v. 125, 2005. p. 685-688.

ELIAS, C. N., LOPES, H. P. **Materiais dentários**: ensaios mecânicos. São Paulo: Ed. Santos, 2007.

FERRARIO, V. F.; SFORZA, C.; ZANOTTI, G. Maximal Bite Forces in Healthy Young Adults as Predicted by Surface Electromyography. **Journal of Dentistry**, v. 32, 2004. p. 451-457.

FERRARIS, M. E. G., MUNOZ, C. **Histologia e Embriologia Bucodental**. 2 ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2006.

GERNHARDT, C. R. et al. Tensile Bond Strengths of Four Different Dentin Adhesives on Irradiated and Non-Irradiated Human Dentin *In Vitro*. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 28, n. 9, 2001. p. 814-820.

GILCHRIST, G. et al. The Use of Micro-Raman Spectroscopy to Differentiate Between Sound and Eroded Primary Enamel. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 17, 2007. p. 274-280.

GRÖTZ, K. A. et al. Histotomography Studies of Direct Radiogenic Dental Enamel Changes. **Mund Kiefer Gesichtschir**, v. 2, n. 2, 1998. p. 85-90.

HE, L. H.; SWAIN, M. V. et al. Enamel – A Functionally Graded Natural Coating. **Journal of dentistry**, v. 37, 2009. p. 596-603.

HEAD AND NECK CANCER. Disponível em:
<http://www.cancer.gov/cancertopics/types/head-and-neck>. Acesso em:
28/05/2009

HSU, C. Y. S. et al. Effects of Low-energy CO₂ Laser Irradiation and the Organic Matrix on Inhibition of Enamel Demineralization. **J Dent Res**, v. 79, n. 9, 2000. p. 1725-1730.

IAEA. Radiation Oncology Physics : a Handbook for Teachers and Students. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2005.

JANSMA, J. et al. Effect of X-Ray Irradiation on the Permeability of Bovine Dental Enamel. **Caries Res.**, v. 24, n. 3, 1990. p. 164-168.

JHAM, B. C.; FREIRE, A. R. S. Complicações bucais da radioterapia em cabeça e pescoço. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v. 72, n. 5, p. 704-708, 2006.

KIELBASSA, A. M. et al. Irradiation Effects on Microhardness of Fluoridated and Non-Fluoridated Bovine Dentin. **Eur J Oral Sci.**, v. 105, n. 5, 1997. p. 444-447.

KIELBASSA, A. M. et al. Radiation-Related Damage to Dentition. **The Lancet Oncology**, v. 7, n. 4, 2006. p. 326-335.

KIRKWOOD, B. R., STEME, J. A. C. Medical statistics. Massachusetts: Blackwell, 2003.

KO, A. C. T. et al. *Ex Vivo* Detection and Characterization of Early Dental Caries by Optical Coherence Tomography and Raman Spectroscopy. **J. Biomed. Opt.**, v. 10, n. 03, 2005. p. 1118.

KOC, D; DOGAN, A.; BEK, B. Bite Force and Influential Factors on Bite Force Measurements: A Literature Review. **Eur J Dent.**, v. 4, n. 2, 2010. p. 223-232.

LEGEROS, T. O. R. et al. Apatite crystallites: effects of carbonate on morphology. **Science**, v. 155, n. 3768, 1967. p. 1409-1411.

LEVENTOURI, T. et al. Crystal Structure Studies of Human Dental Apatite as a Function of Age. **International Journal of Biomaterials**, 2009. p. 1-6.

LIU, Y.; HSU, C. Y. S. Laser-Induced Compositional Changes on Enamel: A FT-Raman Study. **Journal of Dentistry**, v. 35, 2007. p. 226-230.

LOBO, A. O. et al. Estudo dos componentes da dentina humana por diferentes sistemas de espectroscopia Raman. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA e ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO – UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA, 8, 2004, Paraíba. **Anais...** Universidade do Vale do Paraíba, 2004

LOBO, A. O.; MARTIN, A. A.; MARTINHO, H. Utilização da espectroscopia Raman para a caracterização de amostras biológicas. ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA e ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO – UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA, 9, 2005, Paraíba.

Anais... Universidade do Vale do Paraíba, 2005

MCCORMACK, S.M. et al. Scanning Electron Microscope Observations of CO₂ Laser Effects on Dental Enamel. **J Dent Res.**, v. 74, n. 10, 1995. p. 1702-1708.

MAGALHAES, M. F. et al. Measurement of Thermophysical Properties of Human Dentin: Effect of Open Porosity. **J Dent.**, v. 36, 2008. p. 588-594.

MONTEIRO, L.; BARREIRA, E.; MEDEIROS, L. Osteorradiationecrose dos Maxilares. **Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial**, v. 46, n.1, p. 49-62, 2005.

MOSHONOV, J. et al. Chemical Analysis and Surface Morphology of Enamel and Dentin Following 9.6 μ CO₂ Laser Irradiation Versus High Speed Drilling. **J Dent.**, v. 33, n. 5, 2005. p. 427-432.

NAKAMURA, O. Fotoacústica. Disponível em:
<<http://www.fis.ufba.br/~ossamu/Pesquisa/Fotoacustica/>>. Acesso em: 31 may 2007.

NELSON, D. G. A.; WILLIAMSON, B. E. Low-Temperature Laser Raman Spectroscopy of Synthetic Carbonated Apatites and Dental Enamel. **Aust. J. Chem.**, v. 35, 1982. p. 715-727.

NISHINO, M. et al. The Laser-Raman Spectroscopic Studies on Human Enamel and Precipitated Carbonate-containing Apatites. **J Dent Res.**, v. 60, 1981. p. 751-755.

PANAS, A. J. et al. Investigation of the Thermal Diffusivity of Human Tooth Hard Tissue. **International Journal of Thermophysics**, v. 24, n. 3, 2003. p. 837-848.

PAOLI, S. et al. A Review of Scientific Papers About Head and Neck Cancers. **Braz. arch. biol. technol.**, v. 51, n. special, 2008. p. 63-69.

PEÑA, R. G. A. et al. Microestructura y Estudio de la Difusion de Calor en Hueso y Metales de Uso Biomédico. **Superficies y Vacío**, v. 11, 2000. p. 70-73.

PEREIRA, T. M. **Determinação da difusividade térmica do esmalte e dentina em função da temperatura, utilizando termografia no infravermelho**. 2009. Dissertação (Mestrado em Pesquisas Energéticas e Nucleares) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, USP, São Paulo, 2009.

PEZZOTTI, G. Raman Piezo-Spectroscopic Analysis of Natural and Synthetic Biomaterials. **Anal Bioanal Chem.**, v. 381, 2005. p. 577-590.

PICHARDO, M. J. L. et al. Open Photoacoustic Cell Tecnique as a Tool for Thermal and Thermo-Mechanical Characterization of Teeth and their Restorative Materials. **International Journal of Thermophysics**, v 26, n 1, 2005. p. 243-253.

PIETER J. S. et al. Rehabilitation of Oral Function in Head and Neck Cancer Patients After Radiotherapy with Implant-Retained Dentures: Effects of Hyperbaric Oxygen Therapy. **Oral Oncology**, v. 43, n. 4, 2007. p. 379-388.

PIMENTEL, M. L.; **Ultraestrutura e microdureza do esmalte dental humano submetido à irradiação por acelerador linear**. 01/06/2005 - 1v. 71p. Mestrado. Universidade de Taubaté – Odontologia.

RIBEIRO, M. F.; SATHAIAH, S.; PACHECO, M. T. Diagnóstico não invasivo de tecidos dentários através da utilização da espectroscopia Raman. 2001 – Cuba. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE INGENIERIA BIOMÉDICA, 2, 2001, Havana. **Anais...** Cuba, 2001

RODRIGUEZ, G. P. et al. Measurement of Thermal Diffusivity of Bone, Hydroxyapatite and Metals. **Biomedical Application. Analytical Sciences**, v. 17, n. 4, 2000. p.357-360.

RODRIGUES, L. K. A.; CURY, J. A.; NOBRE, S. M. The Effect of Gamma Radiation on Enamel Hardness and Its Resistance to Demineralization in Vitro. **Journal of Oral Science**, v. 46, n. 4, 2004. p. 215-220.

SAKOOLNAMARKA, R. et al. Raman Spectroscopic Study of Noncarious Cervical Lesions. **Odontology**, v. 93, 2005. p. 35-40.

SCHULZE, K. A. et al. Micro-Raman Spectroscopic Investigation of Dental Calcified Tissues. **J Biomed Mater Res A**, v. 69, n. 2, 2004. p. 286-293.

SOARES, L. E. S. et al. Molecular Analysis of Er:YAG Laser Irradiation on Dentin. **Braz Dent J**, v. 17, n. 1, 2006. p. 15-19.

SOARES, L. E. S. et al. Combined FT-Raman and SEM Studies of the Effects of Er:YAG Laser Irradiation on Dentin. **Photomed Laser Surg.**, v. 25, n. 4, 2007A. p. 239-244.

SOARES, L. E. S. et al. Effects of Treatment for Manipulation of Teeth and Er:YAG Laser Irradiation on Dentin: A Raman Spectroscopy Analysis. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 25, n. 1, 2007B. p. 50-57.

SOARES, C. J. et al. Effect of Gamma Irradiation on Ultimate Tensile Strength of Enamel and Dentin. **JDR**, v. 89, n. 2, 2010. p. 159.-164.

SPECHT, L. Oral Complications in the Head and Neck Radiation Patient. **Support Care Cancer**, v. 10, 2002. p. 36-39.

SPRINGER, I. N. et al. Radiation Caries-Radiogenic Destruction of Dental Collagen. **Oral Oncology**, v. 41, n 7, 2005. p. 723-728.

TAGLIAFERRO, E. P. S. et al. Physical and Compositional Changes on Demineralized Primary Enamel Induced by CO2 Laser. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 27, n. 4, 2009. p. 1-6.

TERRA, E. R. **Efeito da radiação ionizante em um composto odontológico**. 2005. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2005.

TRAMINI, P. et al. A Raman Spectroscopic Investigation of Dentin and Enamel Structures Modified by Lactic Acid. **Caries Res.**, v. 34, 2000. p. 233-240.

TSUDA, H.; ARENDS, J. Orientational Micro-Raman Spectroscopy on Hydroxyapatite Single Crystals and Human Enamel Crystallites. **J Dent Res.**, v. 73, n. 11, 1994. p. 1703-1710.

TSUDA, H.; ARENDS, J. Raman Spectroscopy in Dental Research: A Short Review of Recent Studies. **Adv. Dent. Res.**, v. 11, 1997. p. 539-547.

TSUDA, H; RUBEN, J.; ARENDS, J. Raman Spectra of Human Dentin Mineral. **Eur J Oral Sci.**, v. 104, 1996. p. 123-131.

VIEIRA, F. L.; **Influência da radiação nas propriedades de compósitos odontológicos.** 2006 – 1v. 40p. Tese. Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Radiologia Odontologica.

VISSINK, A. et al. Oral Sequela E Of Head And Neck Radiotherapy. **Crit Rev Oral Biol Med.**, v. 14, n. 3, 2003. p. 199-212.

WALKER, R. Direct Effect of Radiation on the Solubility of Human Teeth In Vitro. **J Dent Res**, v. 54, n. 4, 1975. p. 901.

WENTRUP-BYRNE, E. et al. Fourier Transform Raman Microscopic Mapping of the Molecular Components in a Human Tooth. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 28, 1997. p. 151-158.

WIEMANN, M. R. JR.; DAVIS, M. K.; BESIC, F. C. Effects of X-Radiation on Enamel Solubility. **J Dent Res**, v. 51, n. 3, 1972. p. 868.

XU, C. et al. Chemical/Molecular Structure of the Dentin-Enamel Junction is Dependent on the Intratooth Location. **Calcif Tissue Int.**, v. 84, n. 3, 2009. p. 221-228.

XU, C. et al. Molecular Structural Analysis of Noncarious Cervical Sclerotic Dentin Using Ramanspectroscopy. **J. Raman Spectrosc.**, v. 40, 2009. p. 1780-1785.

YAMADA, M. K. et al. Three-Dimensional Topographic Scanning Electron Microscope and Raman Spectroscopic Analyses of the Irradiation Effect on Teeth. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 15, n. 7., 2004. p. 7-15.

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO TECNOLÓGICO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nome do(a) participante: _____

As informações contidas neste documento foram fornecidas por Inês Vilain com o objetivo de firmar acordo por escrito, mediante o qual, o voluntário da pesquisa autoriza sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1. Título do trabalho:

“Estudo dos efeitos das radiações gama e raios X em dentes humanos usando a técnica de espectroscopia de absorção fotoacústica” – estudo *in vitro*.

2. Objetivos:

Determinar e avaliar, *in vitro*, as alterações na estrutura dental, quando dentes humanos são submetidos à ação da radiação utilizada no tratamento do câncer da cabeça e pescoço.

3. Justificativa:

Com o aumento das sofisticadas opções de tratamento do câncer da cabeça e pescoço, mais pacientes estão sendo curados, ou tendo um aumento significativo de sobrevida. Conseqüentemente, as sequelas iniciais e retardadas da radioterapia tornam-se cada vez mais importantes, tendo uma forte influência na qualidade de vida pós-tratamento desses pacientes.

Assim, almejamos contribuir para o aumento do conhecimento e

esclarecimento dos dentes expostos a fontes de radiação ionizante. Isso é relevante para o conhecimento da compatibilidade entre os componentes dentais e materiais restauradores para a adequada reconstrução dental, como também o é para a manutenção da integridade dos dentes dos pacientes que foram submetidos ao tratamento radioterápico.

4. Procedimentos da pesquisa:

Esta pesquisa será desenvolvida com a doação de oito molares humanos hígidos, extraídos por razões terapêuticas ou de outra ordem, que não tenha **nenhuma relação com a pesquisa**, que imediatamente serão imersos e armazenados em soro fisiológico à temperatura ambiente. Posteriormente, serão usados na fase laboratorial da pesquisa.

5. Desconforto ou risco:

Nenhum, pois os dentes serão extraídos por razões terapêuticas ou de outra ordem que não relacionadas à pesquisa.

6. Benefícios do estudo:

Acrescentar à literatura científica informações sobre as alterações sofridas pelo dente, quando este está no raio de ação das radiações ionizantes usadas para tratamento de câncer da cabeça e pescoço. Desse modo, tentaremos colaborar no desenvolvimento de novos protocolos de restauração das estruturas perdidas do dente, como também na manutenção dos dentes íntegros. Assim, poderemos possibilitar melhores resultados clínicos com melhoria de qualidade de vida, beneficiando os pacientes portadores de câncer da cabeça e pescoço que utilizam a radioterapia como parte do tratamento.

7. Informações:

Os doadores dos dentes terão garantia de que receberão respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida em relação aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa. **O material biológico doado não será utilizado em qualquer tipo de pesquisa genética.**

8. Retirada do consentimento:

O voluntário tem total liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar da pesquisa.

9. Telefone para contato com o pesquisador: Inês Vilain

(48) 3209-7216 – residencial

(48) 9961-3666 – celular

(48) 3721-9630 - comercial

Para facilitar o contato telefônico dos participantes da pesquisa e evitar qualquer tipo de ônus a eles, ficam os mesmos autorizados a efetuarem chamadas a cobrar.

10. Aspecto Legal:

Este manual foi elaborado de acordo com as diretrizes e normas que regulamentam as pesquisas envolvendo seres humanos, atendendo às resoluções 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de saúde – Brasília-DF.

11. Consentimento pós-informação:

Eu, _____,
RG nº _____, certifico
que, tendo lido as informações acima, estou plenamente de acordo com
a realização deste estudo, autorizando a minha participação.

Florianópolis, ____/____/____.

Assinatura do paciente (DOADOR)

ANEXO B – CÁLCULO DAS DOSES DE IRRADIAÇÃO DOS FANTOMAS

Phantom: Campo: $x = 7,0$ cm
 Altura: $5,0$ cm $y = 30,0$ cm
 Comprimento: $23,5$ cm
 Profundidade: $5,4$ cm = $2 \times 2,7$ cm

$$d = 2,7\text{cm}$$

$$C_{\Delta} = \frac{x \cdot y \cdot z}{(x + y)} \cong 11,3$$

$$C_c \cong 8,2 \text{ cm}$$

$$TMR = 0,982$$

$$FAC = 1,014$$

$$PSF = \frac{1,066}{1,073} = 0,993$$

$$F_c = 1,03$$

Onde,

d = profundidade; C_{Δ} = campo aberto; C_c = campo colimado; TMR = razão tecido mole; FAC = fator de abertura de colimador; PSF = peak scatter factor; F_c = fator calibração; DM = dose monitora; UM = unidade monitora.

Dose Fracionada: 2000 cGy

Taxa de dose: 400 UM/ min

Tempo de Irradiação: ~ 36 s

Tempo de exposição: 24,5 % do minuto por campo (total = 2 x)

$$DM = 200 \cdot \frac{1}{2} \cdot \frac{1}{0,982 \cdot 1,014 \cdot 0,993 \cdot 1,03} = 98UM \quad (1)$$

Dose Única: 7000 cGy

Taxa de dose: 400 UM/ min

$$DM = 7000 \cdot \frac{1}{2} \cdot \frac{1}{0,982 \cdot 1,014 \cdot 0,993 \cdot 1,03} = 3437UM \quad (2)$$

ANEXO C - RELATÓRIO DIÁRIO DAS IRRADIAÇÕES**DADOS TÉCNICOS**

Campo de irradiação: 7 cm x 30 cm	Aparelho: acelerador linear de 6 MeV
Distância foco pele (DFP): 100 cm	Distância foco tumor (DFTu): 102,7 cm
Colimador: chumbo	Bandeja: simples
Dose total: 7000 cGy	Fracionamento: 5 vezes por Semana
Número de aplicações: 35	Dose/dia: 200 cGy
Técnica: campo direto	

RELATÓRIO DIÁRIO DE IRRADIAÇÃO**2010****AL – CLINAC 600- Sd****Fantoma A - DOSE TOTAL: 70Gy - Total dias irradiação: 01 dia****Fantoma B - DOSE TOTAL: 70Gy- Total dias irradiação: 35 dias**

Mês	Dia	Hora	Fantoma	Dose / Gy	Físico Responsável	
Janeiro	04	20:15	A	70	Daniel	
Janeiro	04	19:45	B	2	Daniel	
	05	19:30	B	2	Crystian	
	06	18:15	B	2	Crystian	
	07	19:00	B	2	Crystian	
	08	19:30	B	2	Crystian	
		Dose Total / semana			10	-----
	11	18:30	B	2	Daniel	
	12	19:00	B	2	Crystian	
	13	19:00	B	2	Daniel	
	14	13:30	B	2	Daniel	
	15	18:45	B	2	Daniel	
		Dose Total / semana			10	-----
	18	18:15	B	2	Daniel	
	19	18:15	B	2	Daniel	
	20	19:15	B	2	Daniel	
	21	19:15	B	2	Crystian	
	22	18:00	B	2	Daniel	
		Dose Total / semana			10	-----
	25	14:15	B	2	Crystian	
	26	13:00	B	2	Crystian	
	27	18:15	B	2	Inês e Técnicos	
	28	18:00	B	2	Crystian	
	29	08:45	B	2	Crystian	
		Dose Total / semana			10	
		Dose Total / MES				40 Gy
	Fevereiro	01	19:00	B	2	Crystian
		02	18:15	B	2	Crystian
		03	17:30	B	2	Crystian
		04	17:15	B	2	Crystian
		05	17:00	B	2	Daniel
		Dose Total /			10	-----

	semana			
08	17:40	<u>B</u>	2	Daniel
09	17:20	<u>B</u>	2	Crystian
10	17:00	<u>B</u>	2	Crystian
11	17:15	<u>B</u>	2	Crystian
12	17:40	<u>B</u>	2	Crystian
	Dose Total / semana		10	-----
17	17:30	<u>B</u>	2	Crystian
18	18:00	<u>B</u>	2	Crystian
19	17:17	<u>B</u>	2	Inês e Técnicos
	Dose Total / semana		6	-----
22	18:45	<u>B</u>	2	Crystian
23	18:15	<u>B</u>	2	Crystian
Dose Total / semana			4	
			Dose Total / MES	30 GY

ANEXO D - ESTUDO PILOTO

Anterior a tomada das medidas Raman deste experimento, foram feitas medidas testes finais para a definição dos fatores de aquisição das medidas, comprovando os da literatura, e testando intervalos alternativos de medida. As variações foram feitas no número de aquisições e no tempo de aquisição, com a potência do laser de argônio fixado em 20 mW na entrada e usando objetiva de 50x, que foram previamente determinados. Os testes foram repetidos para todas as regiões que seriam posteriormente medidas. Estes testes tinham por objetivo chegar a fatores de aquisição que não alterassem a estrutura das amostras, mas que os picos por nós definidos para comparação se mostrassem definidos o suficiente para serem medidos.

Os resultados mostraram que o aumento no número e tempo de aquisição, alteravam as intensidades dos picos Raman, deixando-os mais intensos e nítidos, dependente, evidentemente, dos fatores de aquisições.

A figura anexo c1 mostra um teste em dentina, com medidas repetidas no mesmo ponto (sem remoção ou deslocamento da amostra), sendo obtidas progressivamente com 3 aquisições de 10 s. O resultado confirma que a intensidade dos picos aumenta progressivamente com o aumento das aquisições, deixando-os mais nítidos. Isso não está necessariamente relacionado com o aumento de fase orgânica ou inorgânica. É provável que tenha ocorrido a remoção de elementos mais sensíveis ao calor do laser, havendo perda de matéria, deixando as moléculas correspondentes às bandas orgânicas e inorgânicas vibrarem de forma mais intensa. Assim nos parece que nem sempre a redução do pico está relacionada à perda de material, como é relatado na literatura (NISHINO, M. et al., 1981; TSUDA et al., 1996; RIBEIRO et al., 2001; SOARES et al., 2007; LIU et al., 2007)

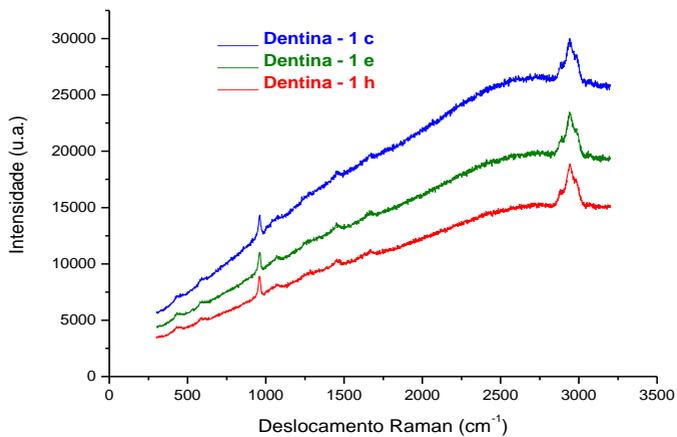


Figura Anexo C1 – Espectros Raman da dentina coletados em repetidas seqüências fixas de 1 aquisição de 10s e 100% de energia: 1c – 3 aquisições; 1e – 5 aquisições; 1h – 8 aquisições.