

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA-MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA
CARIOLOGIA/DENTÍSTICA

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DA COMPOSIÇÃO INORGÂNICA
DA DENTINA EM DENTES PERMANENTES**

Larissa Magnus Klassmann

Porto Alegre, Agosto 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA-MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA
CARIOLOGIA/DENTÍSTICA

Linha de Pesquisa: Biomateriais e Técnicas Terapêuticas em Odontologia

ANÁLISE BIOQUÍMICA DA COMPOSIÇÃO INORGÂNICA DA DENTINA EM DENTES PERMANENTES

Larissa Magnus Klassmann

Dissertação apresentada como
parte dos requisitos obrigatórios
para obtenção do título de
Mestre em Clínica Odontológica
Cariologia/Dentística

Prof. Dr.^a Lina Naomi Hashizume

Orientadora

Porto Alegre, Agosto 2010

“Aprender é a única coisa de que a mente

Nunca se cansa,

Nunca tem medo

E nunca se arrepende.”

Leonardo Da Vinci

DEDICATÓRIA

A minha mãe, Regina, pela incondicional dedicação e apoio em todos os momentos de minha vida; pelo amor, educação, pelo incentivo ao estudo e ao crescimento profissional e, por ter sido, de forma exemplar, mãe e pai ao longo de toda minha trajetória;

Ao meu irmão, Kássio, por participar de cada momento de minha vida, pelo incentivo e pelo ombro amigo, sempre disposto a me ajudar;

A meu padrasto, Gilberto, a quem carinhosamente chamo de “super pai” por toda dedicação, carinho e apoio;

A minha Tia Beth, por todo carinho e amor que ultrapassam a simples relação de sobrinha e tia, pelo apoio, incentivo e torcida constantes para meu crescimento profissional.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, *Lina Naomi Hashizume*, pela orientação do trabalho, pelo exemplo de vida, pela compreensão, pela solidariedade nos momentos difíceis e pela bondade e dedicação infinitas.

À professora *Marisa Maltz* pelo exemplo de profissionalismo, aprendizado, compreensão e conhecimento transmitido.

À *Clarissa Fatturi Parrolo* pela amizade, auxílio e incentivo constantes e pela disponibilidade de colaborar e ensinar.

À *Caren Bavaresco* por todo companherismo, amizade, carinho e conhecimentos transmitidos.

À *Juliana Jobim Jardim* pelo apoio e colaboração.

À minha querida amiga e colega, *Fernanda Giongo*, por dividir as alegrias e as angústias e pelo carinho e amizade construídos.

Às minhas queridas assistentes, *Ana e Rose*, por todo auxílio, companherismo, carinho, compreensão, amizade e dedicação.

À bolsista de iniciação científica *Lucelen Fontoura Bastos* pela colaboração neste trabalho.

Às professoras *Sandra Henz e Berenice Barbachan* pela convivência, amizade e conhecimento transmitido.

Às novas mestrandas, *Roberta e Luciana*, por todo carinho, atenção e apoio.

Aos colegas do Labim pela convivência e companherismo.

À *Tânia Peres*, laboratorista do Labim por todo apoio, eficiência e ajuda.

Aos docentes e ao Programa de Pós Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul por todo aprendizado e crescimento proporcionados.

SUMÁRIO

1. Lista de abreviaturas e símbolos.....	07
2. Resumo.....	08
3. Abstract.....	09
4. Antecedentes e justificativa.....	10
4.1. Dentina.....	10
4.2. O complexo dentino-pulpar.....	11
4.3. A importância dos íons Ca, P e F.....	11
4.4. Maturação dentária.....	14
4.5. Justificativa.....	16
5. Objetivos.....	18
6. Artigo científico	19
7. Considerações finais.....	30
8. Referências.....	31
9. Anexos.....	36
9.1. Parecer do comitê de ética.....	37
9.2. Cálculo amostral após projeto piloto.....	38
9.3. Termo de doação de material biológico.....	39

1. LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Ca = cálcio

P_i = fosfato inorgânico

F = flúor

mg = miligrama

mm = milímetro

EDX = análise por elementos de raios-x

BSE = microscopia eletrônica de varredura por análise de elétrons retroespalhados

μ l = microlitro

μ mol = micromol

ppm = partes por milhão

HCl = ácido clorídrico

M = molar

h = horas

2. RESUMO

O conhecimento a respeito da composição inorgânica dos tecidos dentários, principalmente das concentrações de cálcio (Ca), fosfato inorgânico (P_i) e flúor (F), é importante uma vez que estes elementos contribuem diretamente no processo de desmineralização e remineralização, no esmalte e na dentina. A análise da composição inorgânica da dentina é necessária tanto em dentes hígidos, para estabelecer padrões de normalidade, quanto em uma comparação entre hígidos e cariados, para verificar as alterações que ocorrem em estados patológicos. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar a composição inorgânica da dentina de dentes permanentes através da análise bioquímica das concentrações dos íons Ca, P_i e F em diferentes camadas na dentina hígida de dentes permanentes e comparar as concentrações de Ca, P_i e F em tecido dentinário cariado e hígido de dentes permanentes. A metodologia utilizada foi a análise bioquímica, através do método colorimétrico para análise das concentrações de Ca e P_i e utilização de um eletrodo específico para análise da concentração de flúor. Este trabalho será apresentado na forma de um artigo científico no qual dois experimentos serão relatados. O objetivo do artigo foi verificar as concentrações dos íons Ca, P_i e F nas camadas interna e externa da dentina hígida e, comparar as concentrações destes elementos na dentina hígida e cariada de dentes permanentes. A partir dos resultados deste trabalho, conclui-se que há uma maior concentração de flúor na camada interna de dentina do que na externa e, também, que há significativamente menores quantidades de cálcio, fosfato inorgânico e flúor na dentina cariada do que na hígida.

3. ABSTRACT

The knowledge about the inorganic composition of dental tissues, especially calcium (Ca), inorganic phosphate (P_i) and fluoride (F) is important as these elements contribute directly in the demineralization and remineralization process of enamel and dentin. The analysis of the inorganic composition of dentin is required both in sound dentine, to establish normal patterns, and in a comparison between sound and carious dentine, to verify the changes that occur in pathological states. The objective of this study was to analyze the inorganic composition of dentine in permanent teeth by analyzing ion concentrations of Ca, P_i and F in different layers of dentine and to compare the concentrations of Ca, P_i and F in carious and sound dentine of permanent teeth. The methodology used was biochemical analysis with colorimetric method for Ca and P_i analysis and an electrode for fluoride analysis. This study will be presented as a scientific article in which two experiments were reported to verify ion concentrations of Ca, P_i and F in dentine internal and external layers, and also to compare the concentrations of these elements in sound and carious dentine of permanent teeth. We concluded that there was a higher concentration of fluoride in dentine internal layer than external layer, and also that there were significantly smaller amounts of calcium, inorganic phosphate and fluoride in carious than in sound dentine.

4. ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

4.1. Dentina

A dentina é um tecido composto por uma matriz orgânica e conteúdo mineral (1). Na composição deste tecido, encontra-se 70% de minerais, 20% de matriz orgânica e 10% de água onde, similarmente ao esmalte, a fase mineral é a hidroxiapatita, que é composta por cálcio, fosfato e hidroxila (2). A dentina, portanto, contém cristais inorgânicos de hidroxiapatita e matriz orgânica de proteínas de colágeno e proteínas não colagenosas (3).

O tecido dentinário é formado quando os odontoblastos secretam colágeno tipo I, formando uma matriz extracelular, chamada de pré-dentina, a qual subsequente será mineralizada através da deposição de cristais de apatita (1).

Existem diferentes tipos de dentina. Assim, a dentina secretada durante o desenvolvimento, até a completa formação da raiz, é chamada de dentina primária. Já a dentina fisiológica, formada após a completa formação radicular é chamada de dentina secundária e, por fim, temos a dentina terciária formada por resposta a estímulos, a qual divide-se em (a) Dentina reacional, a qual é uma matriz secretada por células odontoblásticas sobreviventes, em resposta a algum estímulo e (b) Dentina reparadora, a qual é uma matriz secretada por uma nova geração de odontoblastos, frente a estímulo, após a morte dos odontoblastos originais (4). A evolução do tecido dentinário representa importante conhecimento sobre o processo de biomineralização já que a dentina possui propriedades fundamentais, tais como sensibilidade, crescimento contínuo, habilidade reparadora e resposta de hipermineralização a mudanças externas (5)

A dentina, juntamente com a polpa dentária, constitui uma unidade funcional, denominada de complexo dentino-pulpar.

4.2. O complexo dentino-pulpar

O complexo dentino-pulpar é uma unidade funcional que, histologicamente, caracteriza-se por ser um tecido conjuntivo frouxo, possuindo uma variedade de células, fibras colágenas e reticulares, substância fundamental amorfa, líquido tissular, vasos sanguíneos e linfáticos e nervos (7). Este complexo, quando irritado, reage simultaneamente, como uma unidade funcional, sendo a dentina um tecido duro, que é penetrado pelo processo odontoblástico e contém uma matriz orgânica, em maior quantidade do que a encontrada no esmalte (6). O referido complexo possui uma camada de células altamente diferenciadas, os odontoblastos, os quais são especializados na produção de dentina, sendo esta produzida permanentemente, funcionando como uma proteção da polpa frente aos agentes agressores (7). Ressalta-se também que os odontoblastos são células pós-mitóticas que durante a dentinogênese possuem a função primária de secretar e sintetizar a matriz extracelular, a qual compõe a dentina, com subsequente mineralização desta matriz (4).

Na ocorrência da lesão de cárie, o complexo dentino-pulpar responde dinamicamente como uma unidade funcional para proteger o tecido pulpar de irritantes, através da formação de dentina esclerótica e/ou promovendo a formação de dentina reacionária/reparadora pelos odontoblastos que rapidamente depositam a dentina (6, 8).

4.3. A importância dos íons Ca, P_i e F

A doença cárie conduz à perda mineral dos tecidos dentários, que inicia em nível ultraestrutural, e se não tiver curso interrompido, evolui até a formação da cavidade podendo levar à perda dentária (9). A cárie decorre da interação de diversos fatores que levam ao desequilíbrio no processo desmineralização e remineralização provocando

mudanças na dentina que podem ser estudadas por análise histológica, ultraestrutural e através da investigação das alterações químicas que ocorrem nessa patologia (9, 10).

O conhecimento a respeito da composição inorgânica dos tecidos dentários, principalmente das concentrações de cálcio (Ca), fosfato inorgânico (P_i) e flúor (F) é muito importante pois estes elementos contribuem diretamente no processo de desmineralização e remineralização no esmalte e na dentina (11-18). O pH crítico para a desmineralização da hidroxiapatita possui o valor de 5,5 e, para a fluorapatita é de 4,5. Durante o processo de desmineralização ocorre a dissolução de minerais como o cálcio e o fosfato (14, 16, 17).

O Ca, P_i e F são íons naturais da saliva, os quais podem ter efeito significativo nas interações minerais que ocorrem na evolução da lesão de cárie, possuindo reservatórios na cavidade oral e, assim, vindo a influenciar a dinâmica do processo de desmineralização e remineralização (11, 12, 14, 19). Sugere-se que as principais mudanças na dentina cariada são, primeiramente, a reação esclerótica, seguida por dissolução do material mineral original (10). Corroborando com estes relatos, HENZ (20) demonstrou que dentes com lesão de mancha branca apresentam uma diminuição na concentração de cálcio e fósforo no esmalte dentário. Em relação ao flúor, sabe-se que o mesmo pode inibir a desmineralização durante as quedas de pH e acentuar a remineralização em períodos de neutralidade e, por isso, estudos tem procurado demonstrar a relação entre o flúor e a perda mineral (11, 13, 16, 17, 21).

O esmalte dentário é um tecido acelular altamente mineralizado, no qual cristais microscópicos de fosfato de cálcio compreendem 99% do peso seco, sendo que o cálcio, o fosfato e hidroxila, estão organizados na estrutura do cristal (2). Além disso, afirma-se que o esmalte saudável apresenta uma variação de 36 a 38%, do peso total, nos níveis de cálcio e uma variação de 17 a 18%, do peso total, nos níveis de fosfato (20). A concentração de cálcio no esmalte aumenta com a idade, sendo que valores médios deste elemento no esmalte permanecem estáveis a partir dos treze anos, sugerindo que a

calcificação se completa com esta idade. A concentração de fósforo apresenta um valor de 19,2% entre os dez e doze anos, diminuindo para 17,8% aos vinte e cinco anos e permanecendo neste nível a partir desta idade (22).

A composição da dentina, correspondente ao seu peso, é 70% de porção mineral, 20% de matriz orgânica e 10% de água. Similar ao esmalte dentário, a fase mineral é a hidroxiapatita, que é composta por cálcio, fosfato e hidroxila (2). A dentina contém cristais inorgânicos de hidroxiapatita e matriz orgânica de proteínas de colágeno e de proteínas não colagenosas (3).

No que diz respeito ao conteúdo de cálcio e fosfato na dentina, as concentrações desses elementos na pré-dentina de dentes permanentes e decíduos é maior do que na dentina mineralizada (3). Relatos encontrados na literatura mostram que comparando a dentina de dentes decíduos e permanentes, a concentração de cálcio e fósforo na dentina peritubular e intertubular é menor em decíduos do que nos dentes permanentes. Nos dentes decíduos corresponde a 46% de cálcio e 37% de fósforo, enquanto que para os dentes permanentes as porcentagens são 51,4% para cálcio e 38% para fósforo (23). Nos dentes permanentes, o conteúdo de cálcio aumenta na dentina até os dezesseis anos, chegando a um valor médio de 37,3%, e a concentração de fósforo aumenta até os vinte e cinco anos, chegando a 13,6%. Portanto a calcificação da dentina ocorre depois da calcificação do esmalte (22).

Em relação à localização, nos dentes permanentes, destaca-se que a dentina circumpulpar possui menor concentração de cálcio do que a dentina próxima à junção amelodentinária (10). A dentina hígida próxima a câmara pulpar possui em média 0,45 mg/mm³ de Ca e 0,29 mg/mm³ de P_i, e na dentina próxima a junção amelo-dentinária os valores encontrados são 0,52 mg/mm³ para o Ca e 0,23 mg/mm³ para o P_i (24). Estudos mostram que existe uma diminuição do conteúdo mineral em direção a polpa nos dentes

decíduos. O conteúdo mineral reduz em torno de 20% em zona de dentina adjacente a polpa dental (23).

Trabalhos encontrados na literatura relatam que pode haver modificações nos níveis de cálcio e fósforo nas diferentes camadas de dentina cariada. LEVINE et al (10) observaram em seu estudo as seguintes alterações desses elementos nas diferentes camadas de dentina:

- 1) zona de esclerose: as concentrações de cálcio e fósforo foram semelhantes quando comparadas às concentrações de uma área correspondente em dentes hígidos.
- 2) zona de desmineralização: perda mineral de aproximadamente 50% a partir de uma distância de 300 µm da região polpa-junção amelo-dentinária. As concentrações de cálcio e fósforo foram menores que as encontradas em dentes hígidos.
- 3) corpo da lesão: redução de até 70% na concentração de cálcio e 60% para fósforo.
- 4) camada superficial: diminuição nas concentrações de cálcio e fósforo a partir da área de desmineralização para a superfície da lesão.

4.4. Maturação dentária

O desenvolvimento dentário é um complexo processo de biomineralização que depende de mecanismos de controle genético e reações celulares. As células que formam os tecidos dentários derivam de duas camadas: (a) os ameloblastos, que formam o esmalte, os quais são de origem ectodérmica do epitélio oral e (b) os odontoblastos, que formam a dentina, sendo de origem ectomesenquimática, derivando da crista neural (3).

A formação de hidroxiapatita na dentina ocorre por meio de mediadores celulares, células que produzem uma matriz extracelular sobre a qual são depositados minerais e que regulam o fluxo de íons cálcio e fosfato na matriz (25). A mineralização ocorre em sítios independentes sendo que as vesículas da matriz e as fibrilas de colágeno talvez sirvam

como centros independentes de nucleação para os minerais sendo que, proteínas interagem com fibrilas de colágeno para um manejo específico, de onde os íons cálcio e fosfato serão depositados, iniciando a mineralização (26). Assim, o produto final desta biomineralização é sempre a hidroxiapatita, sendo diferente a formação no esmalte e na dentina (3).

Durante a dentinogênese os odontoblastos, em sua porção secretora distal, possuem altas concentrações de cálcio, que parecem ser transportadas para a matriz extracelular, onde a mineralização inicia (25). A concentração de cálcio e fosfato aumenta da superfície do esmalte em direção a junção amelo-dentinária sendo que, tanto os odontoblastos quanto os ameloblastos estão envolvidos na aquisição de cálcio, necessária para os estágios iniciais da mineralização da dentina do manto assim, em estágios finais da amelogênese, os íons cálcio estão localizados na membrana secretora dos ameloblastos, tendo sido sugerido que há um gradiente ativo de cálcio na direção do front de mineralização (27).

No processo de dentinogênese, a matriz inicialmente formada é a dentina do manto, composta por fibrilas de colágeno e destituída de minerais sendo que, depois da formação da dentina do manto os odontoblastos terminam de se diferenciar e o processo odontoblástico torna-se acentuado e, em volta deste processo, a matriz de dentina mineraliza, formando um túbulo dentinário, e entre a dentina intertubular e o processo odontoblástico, constitui-se a dentina peritubular a qual é hipermineralizada em relação a dentina intertubular (28).

Ressalta-se também que nos vertebrados, o processo de mineralização envolve uma série de eventos seqüenciais e localizados, os quais permitem o crescimento e formação da apatita mineral em uma matriz extracelular (29)

Contudo, informações sobre a distribuição mineral dos tecidos dentários são importantes para o entendimento da mineralização e da maturação e estas permitem

também uma melhor compreensão do desenvolvimento dentário, sendo que existem mudanças quando os dentes estão na cavidade oral, devido a trocas iônicas, as quais contribuem para o conteúdo mineral e permitem a maturidade do tecido (30). E, por fim, cabe ressaltar que há uma maturação pós eruptiva a qual ocasiona diferenças no conteúdo mineral dos tecidos dentários expostos à cavidade oral (30).

4.5. Justificativa

A análise bioquímica tem se mostrado um metodologia adequada para quantificação de elementos como Ca, P_i e F, inclusive em pequenas quantidades. VOGEL et al em estudos realizados com amostras de biofilme dentário, esmalte dentário e fluido do biofilme (12,19, 24, 34, 35) utilizaram a análise bioquímica para a determinação Ca, P_i e F. A técnica utilizada para a análise das concentrações de Ca e P_i foi o método colorimétrico com o uso de reagentes sensíveis de 0,2 ppm de Ca e 0,02 ppm de P_i . Enquanto que para a análise das concentrações de flúor foi utilizado um eletrodo específico para flúor em miniatura que permitia a medição em seis microamostras simultaneamente (24).

Foram encontrados na literatura alguns trabalhos que analisaram o conteúdo mineral da dentina principalmente em relação às concentrações de cálcio e fosfato (3, 10, 23). Entretanto as metodologias utilizadas nestes estudos para determinação do conteúdo mineral foram: análise por elementos de raios-x (EDX) (3, 5, 6, 21), análise por ativação de neutrons (31), absorção atômica (22), análise com microsonda eletrônica (32) e irradiação a laser (33). Não foram encontrados trabalhos que avaliassem conjuntamente as concentrações de cálcio, fosfato e flúor na dentina, e também que utilizassem análises bioquímicas para determinação destas concentrações.

A literatura também demonstra que há diferença no conteúdo mineral em diferentes zonas de dentina (3, 5, 6, 23, 30) o que torna importante, também, a caracterização do conteúdo mineral de Ca, F e P_i , em diferentes zonas de dentina, de dentes permanentes hígidos. O conhecimento dos parâmetros de normalidade destes elementos possibilitará o reconhecimento das conseqüências provocadas pela cárie no tecido dentinário.

Portanto, no presente estudo, propõe-se utilizar a técnica da análise bioquímica, que mostrou ter uma sensibilidade elevada para detecção de Ca, P_i , e F contida em amostras de biofilme dentário, fluído do biofilme e esmalte dentário (12, 19) para análise desses elementos em dentes hígidos e cariados. Pretende-se analisar a dentina de dentes permanentes hígidos em diferentes zonas e, também, comparar a composição mineral da dentina hígida e cariada. Na literatura a composição inorgânica da dentina hígida foi estudada com análise bioquímica, porém estas pesquisas possuíam poucas amostras e não analisavam a quantidade de cálcio, fosfato inorgânico e flúor em conjunto. Portanto, não foram encontradas na literatura evidências claras sobre o conteúdo mineral na dentina hígida e cariada em relação aos níveis de Ca, P_i e F.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GERAL

Analisar bioquimicamente a composição inorgânica da dentina de dentes permanentes hígidos e cariados.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Analisar as concentrações dos íons de Ca, P_i e F em diferentes camadas da dentina hígida de dentes permanentes

b) Analisar as concentrações de Ca, P_i e F em tecido dentinário cariado e hígido de dentes permanentes.

6. ARTIGO CIENTÍFICO

Biochemical composition of carious and sound dentine in permanent teeth

Short title: Biochemical composition of carious and sound dentine

Larissa MAGNUS

Marisa MALTZ

Caren BAVARESCO

Lucelen Fontoura BASTOS

Lina Naomi HASHIZUME

Department of Preventive and Social Dentistry, Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

Corresponding author

Lina Naomi Hashizume

Department of Preventive and Social Dentistry

Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul

Rua Ramiro Barcelos, 2492

CEP 90035-003, Bom Fim, Porto Alegre, RS (Brazil)

Tel. +55 51 3316 - 5348, Fax +55 51 3316 5002

E-mail lhashizume@yahoo.com

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the concentration of calcium (Ca), inorganic phosphate (P_i) and fluoride (F) in sound and carious dentin of permanent teeth. The sample was composed by 52 teeth (26 sound and 26 carious) that were submitted to two experiments to assess: (1) the mineral content of sound dentin in two layers (internal and external) and (2) the mineral content of sound and carious dentin. Ca and P_i were analyzed by a colorimetric method and F was analyzed with a specific electrode. Non parametric test, Mann Whitney was used to verify differences between groups. It was observed a higher concentration of fluoride in internal dentin layer when compared to external layer ($p = 0.04$). No differences were observed regarding Ca and P_i concentrations between internal and external dentin layer. Lower concentrations of Ca, P_i and F were observed in the carious dentin when compared to sound dentin ($p < 0.05$). The results of this study suggest that the internal layer of sound dentin has more fluoride content than external layer, and carious dentin has decreased concentrations of Ca, P_i and F when compared to sound dentin.

Key words: dental caries, dentin, chemical composition

INTRODUCTION

The carious process results in the demineralization of dental hard tissues (1-4) leading to a considerable reduction in their mineral content (2,3). Calcium, inorganic phosphate and fluoride are the main constituents of the mineral phase of dentin (1,5). The concentrations of these ions are important in the process of demineralization and remineralization in the dentin (2,4,6,7).

Several attempts have been made to analyze the mineral composition of different layers in dentin (1,2,4). It is important to study the distribution of mineral content in hard tissues and the relation between the mineral content in order to provide a better understanding of the pathologic process. In the past, the concentration of inorganic phosphate (7) and calcium (6) were studied with biochemical analyses. More recently the mineral content of dentin has been studied with different

methodologies like energy-dispersive X-ray analysis (1,4,9), neutron activation analysis (10), atomic absorption (5) and laser irradiation (11). A biochemical analysis is able to detect small amounts of Ca, P_i and F and, has been wide used in biofilm, dental enamel and biofilm fluid studies (12-15). The studies using biochemical analysis of dentin were done with few samples and did not analyze the concentrations of Ca, P_i and F together. For these reasons, these results cannot be generalized with confidence in the understanding of demineralization of dentin during the carious process.

The aim of the present study was to evaluate the concentrations of calcium, inorganic phosphate and fluoride, through a biochemical analysis, in different mineralized layers of sound dentin and the mineral content of sound and carious dentin of permanent teeth.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

To evaluate the concentrations of calcium, inorganic phosphate and fluoride of the dentin (sound and carious), two experiments were carried to assess:

Experiment 1: the mineral content of sound dentin in different layers.

Experiment 2: the mineral content of sound and carious dentin.

In both experiments, the sound dentin samples were obtained from molar teeth from the Human Teeth Bank of the Faculty of Dentistry of the Federal University of Santa Maria, RS, Brazil. The carious human dentin samples were obtained from patients treated in the dental clinic of the Faculty of Dentistry of Federal University of Rio Grande do Sul. This study was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Dentistry of Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil (protocol number 288/08).

The sample size was based on a pilot study considering a statistic power of 0.8 and a level of significance of 0.05. It was found a number of 24 samples for calcium and 13 samples for fluoride

and inorganic phosphate analysis. Considering a possible loss of 8%, the sample comprised 26 molar teeth in each analysis.

Specimen Preparation

The crowns of 26 sound molar teeth were divided in two halves (mesial and distal) with a low speed diamond saw machine (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA). The mesial halves were used in experiment one and the distal halves in experiment two.

Experiment 1: Blocks of dentin were obtained from the proximal surface with the following limits: enamel-dentine junction and dentin-pulp junction (lateral limit); where two lines were drawn perpendicular to the lateral limits, a line from the pulp horn in the direction of the enamel-dentin junction (occlusal limit) and 2mm below the occlusal limits (cervical limit). The blocks were cut with a low speed diamond saw machine (Buehler) and the layers were measured with a paquimeter (Digimess, Mooca, São Paulo, Brazil).

Experiment 2: Blocks of sound dentin were obtained from the occlusal surface, 1 mm under the enamel-dentin junction (1mm³). Carious dentin samples were obtained from occlusal caries after the removal of the necrotic disorganized soft dentin corresponding to a carious dentin at similar distance as the dentin obtained in the sound teeth.

After the sectioning and collection, all samples were frozen at -20°C for posterior analysis.

Biochemical Analysis

The samples were dehydrated for 24 hours at 37°C, manually grounded and weighted (± 0.01 mg, Sartorius BP 210D, Göttingen, Germany). For Ca, P_i and F extraction from the dentin, 0.5 M hydrochloric acid (HCl) was added to the microtubes (0.5 mL HCl/mg dry weight dentin) containing the samples. After 3 h of constant agitation at room temperature, samples were centrifuged for 10 min at 14.000 rpm (Eppendorf, Hamburg, Germany) and the supernatant retained for Ca, P_i and F determination. Inorganic phosphate and calcium were colorimetrically determined (12-15). Fluoride measurement was performed using a fluoride-sensitive electrode (Orion 9609, Orion Research Inc.,

Boston, USA) connected to an ion analyzer (Procyon SA-720, São Paulo, Brazil) (11-14). The results were expressed as micromoles per milligram of dentin ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ dentin) for Ca and P_i , and in parts per million (ppm) for F.

Statistical Analysis

Non parametric test, Mann-Whitney, was used to verify differences in calcium, inorganic phosphate and fluoride concentrations in different layers of dentin and for the comparison between sound and carious dentin. The statistical analyses were done with SPSS software, version 17.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) with a significance level of 0.05.

RESULTS

Table 1 shows the concentrations of Ca, P_i and F in different layers of dentin. For calcium and inorganic phosphate concentrations no differences were observed between internal and external layers. Only for fluoride concentrations, the internal layer presented higher concentration when compared to the external one ($p = 0.004$).

Table 1. Concentrations of calcium, inorganic phosphate and fluoride in internal and external layers of dentine

	n	Internal layer			External layer			P
		Percentiles			Percentiles			
		25	50	75	25	50	75	
Calcium ($\mu\text{mol Ca}/\text{mg}$ dentin)	26	0.20	0.28	1.11	0.19	0.28	0.86	0.52
Inorganic phosphate ($\mu\text{mol Pi}/\text{mg}$ dentin)	23*	0.27	0.50	1.02	0.25	0.30	0.97	0.64
Fluoride (ppmF)	26	2299.00	5379.00	12777.00	1218.00	2879.00	7196.00	0.03

*In three samples the amount of P_i could not be determined
Mann-Whitney non parametric test

The concentrations of calcium, inorganic phosphate and fluoride in sound and carious dentin are expressed in table 2. Carious dentin samples had lower concentrations of calcium, inorganic phosphate and fluoride than sound dentin ones ($p < 0.05$).

Table 2. Concentrations of calcium, inorganic phosphate and fluoride in sound and carious dentine

	n	Carious dentine			Sound dentine			p
		Percentiles			Percentiles			
		25	50	75	25	50	75	
Calcium ($\mu\text{mol Ca/mg dentin}$)	25*	0.09	0.18	0.53	0.16	0.32	0.62	0.04
Inorganic phosphate ($\mu\text{mol Pi/mg dentin}$)	26	0.04	0.07	0.13	0.10	0.14	0.25	0.00
Fluoride (ppmF)	26	289.00	967.00	2283.00	1197.00	2727.00	5232.00	0.01

*In one sample the amount of Ca could not be determined
Mann-Whitney non parametric test

DISCUSSION

The present study assessed the inorganic composition of sound and carious dentin of permanent teeth by biochemical analysis. The concentrations of Ca and P_i were similar in the internal and external layers of dentin, while higher concentration of fluoride was observed in the internal layer when compared to the external one. It was also observed a great variation in the concentrations of calcium, inorganic phosphate and fluoride in the analyzed samples. Studies in the literature report the composition of minerals in sound dentin (1-6,10,11). The concentrations of calcium and inorganic phosphate may vary in function of individuals, age, gender, location and environmental (5,10). The variation of mineral concentrations observed in the present study was also observed by other studies (6,5,10). ANGKER et al. (3) using back-scattered electrons (BSE) imaging showed that the deep circumpulpal dentin (around 15% of the circumpulpal dentin) had decreased mineral content. The small difference in mineral content observed by ANGKER et al (3) was not found by

LEVINE (6) and in our study. This difference in results could be explained by the difference in sample collection methodology between the studies. In the present study the sample of dentin was divided in two halves while in the ANGKER et al. study (3) the measurements were done almost continuum with a working distance of 10mm. The diminutive portion (15% of the circumpulpal dentin) with lower mineral content observed by the BSE imaging comprises only a small part of the internal layer observed by us. The detection of these small differences in mineral content therefore, could not be measured in the present study.

The great variation in the amount of fluoride observed in sound dentin among the samples was also observed by others. However, a higher concentration of fluoride was observed in the present study in relation to other studies done in the 70's (5,10). This could be due to the increased availability of fluoride. Furthermore our samples were obtained from a fluoridated water supply area with access to fluoride dentifrice while the samples of the others studies (5,10) were collected from a non fluoridated area and probably had limited access to fluoride dentifrice. Higher concentrations of fluoride were observed in internal dentin layer when compared to the external layer. WEATHERELL et al. (8) also observed an increase in fluoride concentration from the dentin-enamel junction toward the pulp chamber.

The carious dentin has a lower mineral content than sound dentin (2-4,6). In the present study, significant lesser amounts of calcium and inorganic phosphate were detected in carious dentin when compared to sound dentin. These results are coherent with the pathology of caries disease that is characterized by a mineral loss (2,4-6).

In dental enamel the concentrations of fluoride in carious teeth are higher than sound and this is due to remineralization process that allows the formation of fluorapatite (16,17). In the present study the carious dentin presented lower concentration of fluoride when compared to sound dentin. The carious dentin was collected from occlusal cavities of caries with intact walls, which showed no destruction of the proximal without full exposure to the oral environment. These environmental

conditions could explain a lower amount of fluoride due to the predominant demineralization process in the carious dentin located at the bottom of the cavity.

The results of this study suggest that internal layer of sound dentin have more fluoride content than external layer, and carious dentin has decreased concentrations of Ca, P_i and F when compared to sound dentin.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar as concentrações de cálcio (Ca), fosfato inorgânico (P_i) e flúor na dentina hígida e cariada de dentes permanentes. A amostra foi composta por 52 dentes (26 hígidos e 26 cariados) que foram submetidos a dois experimentos para avaliar: o conteúdo mineral da dentina em duas camadas (interna e externa) e; o conteúdo mineral da dentina hígida e cariada. As concentrações de Ca e P_i foram analisadas por métodos colorimétricos e as de F foram analisadas através de um eletrodo específico. A camada interna de dentina apresentou concentrações de flúor mais altas que a camada externa ($p < 0,05$), entretanto para as concentrações de Ca e P_i não foram observadas diferenças entre as camadas. Quando comparada à dentina hígida, a dentina cariada apresentou concentrações reduzidas de Ca, P_i e F ($p < 0,05$). Os resultados deste estudo sugerem que a camada interna de dentina tem maior conteúdo de flúor do que a camada externa, e que a dentina cariada apresenta concentrações menores de Ca, P_i e F quando comparadas à dentina hígida.

REFERENCES

1. Arnold WH, Gaengler P. Quantitative analysis of the calcium and phosphorus content of developing and permanent human teeth. *Ann Anat* 2007;189:183-190.
2. Arnold WH, Konopka S, Gaengler P. Qualitative and quantitative assessment of intratubular dentin formation in human natural carious lesions. *Calcif Tissue Int* 2001;69:268-273.

3. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Quantitative analysis of the mineral content of sound and carious primary dentine using BSE imaging. *Arch Oral Biol* 2004;49:99-107.
4. Arnold WH, Konopka S, Kriwalsky MS, Gaengler P. Morphological analysis and chemical content of natural dentin carious lesion zones. *Ann Anat* 2003;185:419-424.
5. Derise NL, Ritchey SJ, Furr AK. Mineral composition of normal human enamel and dentin and the relation of composition to dental caries. I. Macrominerals and comparison of methods of analyses. *J Dent Res* 1974;53:847-852.
6. Levine R. The differential inorganic composition of dentine within active and arrested carious lesions. *Caries Research* 1973;7:245-260.
7. Eidelman ES, B.Finn; Theodore Koulourides. Remineralization of carious dentin treated with calcium hydroxide. *Journal of Dentistry for children* 1965;32:218-225.
8. Weatherell JA, Deutsch D, Robinson C, Hallsworth AS. Assimilation of fluoride by enamel throughout the life of the tooth. *Caries Res* 1977;11 Suppl 1:85-115.
9. Massara ML, Alves JB, Brandao PR. Atraumatic restorative treatment: clinical, ultrastructural and chemical analysis. *Caries Res* 2002;36:430-436.
10. Lakomaa EL, Rytomaa I. Mineral composition of enamel and dentin of primary and permanent teeth in Finland. *Scand J Dent Res* 1977;85:89-95.
11. Moshonov J, Stabholz A, Bar-Hilel R, Peretz B. Chemical analysis and surface morphology of enamel and dentin following 9.6 μ CO₂ laser irradiation versus high speed drilling. *J Dent* 2005;33:427-432.
12. Vogel GL, Chow LC, Brown WE. A microanalytical procedure for the determination of calcium, phosphate and fluoride in enamel biopsy samples. *Caries Res* 1983;17:23-31.

13. Vogel GL, Carey CM, Chow LC, Tatevossian A. Micro-analysis of plaque fluid from single-site fasted plaque. *J Dent Res* 1990;69:1316-1323.
14. Tenuta LM, Del Bel Cury AA, Bortolin MC, Vogel GL, Cury JA. Ca, Pi, and F in the fluid of biofilm formed under sucrose. *J Dent Res* 2006;85:834-838.
15. Pearce E. Plaque minerals and dental caries. *Arch Oral Biol* 1998;94:12-15.
16. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *J Can Dent Assoc* .2003;69:722-4.
17. Ekstrand KR, Ricketts DN, Kidd EA. Reproducibility and accuracy of three methods for assessment of demineralization depth of the occlusal surface: an in vitro examination. *Caries Res* 1997;31:224-31.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento sobre o conteúdo mineral do tecido dentinário permitiu um melhor entendimento sobre alterações bioquímicas que ocorrem na cárie dentinária. Assim, o presente trabalho permite considerar que:

1. A cárie dentária altera o conteúdo mineral da dentina sendo que há uma diminuição significativa nos níveis de cálcio, fosfato inorgânico e flúor quando compara-se dentina cariada e hígida.
2. Em relação às diferentes camadas da dentina, verificou-se que há uma maior concentração de flúor na camada interna do que na externa.
3. Há uma variabilidade muito grande no conteúdo mineral da dentina, em relação às concentrações de cálcio, fosfato inorgânico e flúor entre os indivíduos.
4. Sugere-se que mais estudos sejam realizados tanto para verificar o conteúdo mineral da dentina em estado de normalidade quanto em situações patológicas, pois, os dois parâmetros contribuem para o entendimento e adequado tratamento do processo carioso.

REFERENCIAS

1. Qin C, Baba O, Butler WT. Post-translational modifications of sibling proteins and their roles in osteogenesis and dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15(3):126-136.
2. Kidd EFO. Interações químicas entre o dente e os fluídos orais. In:_____Cárie Dentária: A doença e seu tratamento clínico. . 2005;Cap. 4:p.49-68.
3. Arnold WH, Gaengler P. Quantitative analysis of the calcium and phosphorus content of developing and permanent human teeth. *Ann Anat* 2007;189(2):183-190.
4. Smith AJ, Cassidy N, Perry H, Begue-Kirn C, Ruch JV, Lesot H. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Biol* 1995;39(1):273-280.
5. Arnold WH, Konopka S, Kriwalsky MS, Gaengler P. Morphological analysis and chemical content of natural dentin carious lesion zones. *Ann Anat* 2003;185(5):419-424.
6. Arnold WH, Konopka S, Gaengler P. Qualitative and quantitative assessment of intratubular dentin formation in human natural carious lesions. *Calcif Tissue Int* 2001;69(5):268-273.
7. Soares I, Goldberg F. Capítulo 1- O Cenário. Livro Endodontia: Técnica e Fundamentos- Editora Artes Médicas 2001;1(1):23-26.
8. Lee YL, Liu J, Clarkson BH, Lin CP, Godovikova V, Ritchie HH. Dentin-pulp complex responses to carious lesions. *Caries Res* 2006;40(3):256-264.
9. Maltz MP, C.C.F.; Jardim, J.J. Cariologia Clínica. In:TOLEDO,O.A.- Odontopediatria- Fundamentos para a prática clínica, São Paulo 2005; 3ª ed.(Cap.6):p.103-150
10. Levine R. The differential inorganic composition of dentine within active and arrested carious lesions. *Caries Research* 1973;7(3):245-260.
11. Ccahuana-Vasquez RA, Tabchoury CP, Tenuta LM, Del Bel Cury AA, Vale GC, Cury JA. Effect of frequency of sucrose exposure on dental biofilm composition and enamel demineralization in the presence of fluoride. *Caries Res* 2007;41(1):9-15.

12. Cury JA, Marques AS, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA. Composition of dental plaque formed in the presence of sucrose and after its interruption. *Braz Dent J* 2003;14(3):147-152.
13. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res* 2003;37(5):339-344.
14. Hay DI. Salivary factors in caries models. *Adv Dent Res* 1995;9(3):239-243.
15. Kleter GA, Damen JJ, Everts V, Niehof J, Ten Cate JM. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. *J Dent Res* 1994;73(9):1523-1529.
16. Lynch RJ, Mony U, Ten Cate JM. The effect of fluoride at plaque fluid concentrations on enamel de- and remineralisation at low pH. *Caries Res* 2006;40(6):522-529.
17. Marinelli CB, Donly KJ, Wefel JS, Jakobsen JR, Denehy GE. An in vitro comparison of three fluoride regimens on enamel remineralization. *Caries Res* 1997;31(6):418-422.
18. Milan AM, Waddington RJ, Embery G. Altered phosphorylation of rat dentine phosphoproteins by fluoride in vivo. *Calcif Tissue Int* 1999;64(3):234-238.
19. Tenuta LM, Del Bel Cury AA, Bortolin MC, Vogel GL, Cury JA. Ca, Pi, and F in the fluid of biofilm formed under sucrose. *J Dent Res* 2006;85(9):834-838.
20. Henz SL. Avaliação Morfológica da efetividade do corante vermelho-ácido a 1% na identificação da dentina cariada. Dissertação de Mestrado - Mestrado em microbiologia Clínica-Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas 1997(Porto Alegre, Rs.):87p.
21. Massara ML, Alves JB, Brandao PR. Atraumatic restorative treatment: clinical, ultrastructural and chemical analysis. *Caries Res* 2002;36(6):430-436.
22. Derise NL, Ritchey SJ, Furr AK. Mineral composition of normal human enamel and dentin and the relation of composition to dental caries. I. Macrominerals and comparison of methods of analyses. *J Dent Res* 1974;53(4):847-852.

23. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Quantitative analysis of the mineral content of sound and carious primary dentine using BSE imaging. *Arch Oral Biol* 2004;49(2):99-107.
24. Vogel GL, Chow LC, Brown WE. A microanalytical procedure for the determination of calcium, phosphate and fluoride in enamel biopsy samples. *Caries Res* 1983;17(1):23-31.
25. Boskey AL. The role of extracellular matrix components in dentin mineralization. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991;2(3):369-387.
26. Dechichi P, Biffi JC, Moura CC, de Almeida AW. A model of the early mineralization process of mantle dentin. *Micron* 2007;38(5):486-491.
27. Woltgens JH, Lyaruu DM, Bronckers AL, Bervoets TJ, Van Duin M. Biomineralization during early stages of the developing tooth in vitro with special reference to secretory stage of amelogenesis. *Int J Dev Biol* 1995;39(1):203-212.
28. Arana-Chavez VE, Massa LF. Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36(8):1367-1373.
29. Hao J, Ramachandran A, George A. Temporal and spatial localization of the dentin matrix proteins during dentin biomineralization. *J Histochem Cytochem* 2009;57(3):227-237.
30. Anderson P, Elliott JC, Bose U, Jones SJ. A comparison of the mineral content of enamel and dentine in human premolars and enamel pearls measured by X-ray microtomography. *Arch Oral Biol* 1996;41(3):281-290.
31. Lakomaa EL, Rytomaa I. Mineral composition of enamel and dentin of primary and permanent teeth in Finland. *Scand J Dent Res* 1977;85(2):89-95.
32. Tjaderhane L, Hietala EL, Larmas M. Mineral element analysis of carious and sound rat dentin by electron probe microanalyzer combined with back-scattered electron image. *J Dent Res* 1995;74(11):1770-1774.

33. Moshonov J, Stabholz A, Bar-Hilel R, Peretz B. Chemical analysis and surface morphology of enamel and dentin following 9.6 μ CO₂ laser irradiation versus high speed drilling. *J Dent* 2005;33(5):427-432.
34. Vogel GL, Carey CM, Chow LC, Tatevossian A. Micro-analysis of plaque fluid from single-site fasted plaque. *J Dent Res* 1990;69(6):1316-1323.
35. Vogel GL, Mao Y, Carey CM, Chow LC. Increased overnight fluoride concentrations in saliva, plaque, and plaque fluid after a novel two-solution rinse. *J Dent Res* 1997;76(3):761-767.
36. Pearce EI, Hancock EM, Gallagher IH. The effect of fluorhydroxyapatite in experimental human dental plaque on its pH, acid production and soluble calcium, phosphate and fluoride levels following glucose challenge. *Arch Oral Biol* 1984;29(7):521-527.
37. Pearce E. Plaque minerals and dental caries. *N Z Dent J* 1998;94(415):12-15.
38. Fiske, Subbarow. The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 1925;66:375-400.
39. Ferjeskov, O; Ekstrand, J; Burt, B. Fluoride in dentistry. Copenhagen: Munksgaard, 1996. 294 p
40. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Correlating the mechanical properties to the mineral content of carious dentine--a comparative study using an ultra-micro indentation system (UMIS) and SEM-BSE signals. *Arch Oral Biol*. 2004 May;49(5):369-78.
41. Zavgorodniy AV, Rohanizadeh R, Swain MV. Ultrastructure of dentine carious lesions. *Arch Oral Biol*. 2008 Feb;53(2):124-32.
42. Aoba T. Solubility properties of human tooth mineral and pathogenesis of dental caries. *Oral Dis*. 2004 Sep;10(5):249-57.
43. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *J Can Dent Assoc*. 2003 Dec;69(11):722-4.

44. Eidelman ES, B.Finn; Theodore Koulourides. Remineralization of carious dentin treated with calcium hydroxide. *Journal of Dentistry for children* 1965;32(4):218-225.
45. Weatherell JA, Deutsch D, Robinson C, Hallsworth AS. Assimilation of fluoride by enamel throughout the life of the tooth. *Caries Res.* 1977;11 Suppl 1:85-115.

ANEXOS

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**RESOLUÇÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa e a Comissão de Pesquisas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul analisaram o Projeto:

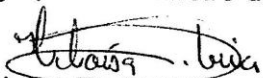
Número: 266/08

Título: EFEITO DOS MATERIAIS FORRADORES NA DENTINA CARIADA: ESTUDO BIOQUÍMICO.

Investigador(es) principal(ais): Lina Naomi Hashizume, Marisa Maltz e CD. Larissa Magnus Klassmann.

O Projeto foi aprovado na reunião do dia 22/01/2008, Ata nº 01/08 do Comitê de Ética em Pesquisa e da Comissão de Pesquisas, da UFRGS, por estar adequado ética e metodologicamente de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, 31 de Janeiro de 2008.



Profª. Heloisa Emília D. Da Silveira
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisas



Profª. Deise Ponzoni
Coordenadora da Comissão de Pesquisas

ANEXO 2: CÁLCULO AMOSTRAL APÓS PROJETO PILOTO

1.Cálculo amostral para cálcio

Desvio padrão: **5.3800**

Nível de significância: **5%**

Poder do teste: **95%**

Teste de hipótese: **bicaudal**

Tamanho da amostra calculado: **24**

Para outros valores do nível de significância e poder do teste temos:

Nív. de signif.	Poder do teste	Tamanho da amostra
5%	65%	10
5%	70%	11
5%	75%	13
5%	80%	14
5%	85%	16
5%	90%	19

2.Cálculo amostral para fósforo

Desvio padrão: **2.0200**

Nível de significância: **5%**

Poder do teste: **95%**

Teste de hipótese: **bicaudal**

Tamanho da amostra calculado: **13**

Para outros valores do nível de significância e poder do teste temos:

Nív. de signif.	Poder do teste	Tamanho da amostra
5%	65%	5
5%	70%	6
5%	75%	7
5%	80%	8
5%	85%	9
5%	90%	10
0.1%	95%	24
1%	95%	18
10%	95%	11

3.Cálculo amostral para flúor

Desvio padrão: **884.0000**

Nível de significância: **5%**

Poder do teste: **95%**

Teste de hipótese: **bicaudal**

Tamanho da amostra calculado: **13**

Para outros valores do nível de significância e poder do teste temos:

Nív. de signif.	Poder do teste	Tamanho da amostra
5%	65%	5
5%	70%	6
5%	75%	7
5%	80%	8
5%	85%	9
5%	90%	10

TERMO DE DOAÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO
ANÁLISE BIOQUÍMICA DA COMPOSIÇÃO INORGÂNICA
DA DENTINA EM DENTES PERMANENTES

Pesquisadores responsáveis: C.D Larissa Magnus Klassmann, Prof^ª.Dr^ª Lina Naomi Hashizume.

Telefones para contato com pesquisadores: (51) 3308-5193 e (51) 9665-1046.

A doença cárie continua sendo a maior responsável pela perda dentária em todas as idades, mais que qualquer outra doença bucal. A cárie decorre da interação de diversos fatores que levam ao desequilíbrio no processo desmineralização e remineralização, conduzindo à perda mineral dos tecidos dentários podendo levar à perda dentária. Assim, torna-se importante o estudo das conseqüências da cárie dentária com a finalidade de quantificar a perda mineral que ocorre nesta doença, através do estudo dos elementos cálcio, fosfato inorgânico e flúor que desempenham papel importante no processo de saúde-doença.

Objetivo do estudo: Analisar bioquimicamente a composição inorgânica da dentina de dentes permanentes cariados e hígidos.

Procedimento: Serão coletados tecido cariado de molares permanentes que foram removidos durante tratamento dentário, e foram doados pelos pacientes ou responsáveis. Os tecidos doados farão parte de um estudo bioquímico de análise dos elementos cálcio, fosfato inorgânico e flúor.

Acompanhamento e assistência: o doador do tecido estará em atendimento na Faculdade de Odontologia e será acompanhado durante o pós-operatório.

Sigilo: Todas as informações obtidas neste estudo poderão ser publicadas com finalidade científica, sem divulgação dos nomes das pessoas envolvidas.

Consentimento: Declaro ter lido e compreendido integralmente as informações acima antes de assinar este termo, não restando dúvidas quanto ao conteúdo deste documento. Assim, livre de qualquer forma de constrangimento e/ou coação faço a doação de meu dente ou de meu filho, em casos de menores de idade, neste estudo.

Nome do Participante: _____

Assinatura participante ou responsável: _____

Assinatura Pesquisador: _____

Data: _____