

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

RAQUEL LANNA PASSOS

**MICRODUREZA E ANÁLISE ESTRUTURAL DE
DENTES COM AMELOGÊNESE E
DENTINOGÊNESE IMPERFEITA**

**Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da
Universidade de Brasília.**

Orientadora: Profa. Dra. Lilian Marly de Paula

Co-Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Acevedo Poppe

BRASÍLIA

2013

RAQUEL LANNA PASSOS

**MICRODUREZA E ANÁLISE ESTRUTURAL DE
DENTES COM AMELOGÊNESE E
DENTINOGENESE IMPERFEITA**

**Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção do Título de Mestre em Ciências
da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.**

Aprovado em 09 de dezembro de 2013.

BANCA EXAMINADORA

Profa Dra Lilian Marly de Paula

Componente da mesa (presidente)

Universidade de Brasília

Profa Dra Patrícia Nóbrega Rodrigues Pereira

Componente da Banca

Universidade de Brasília

Profa Dra Eliza Carla Barroso Duarte Veríssimo

Componente da Banca

Universidade de Brasília

Dedico este trabalho...

a Deus,

por me guiar pelos caminhos certos, dar força nos momentos mais difíceis desta caminhada e por despertar em mim a vontade de ser sempre mais e de acreditar nos meus sonhos.

aos meus pais Newton e Mércia,

por seu apoio constante: sua crença na minha capacidade e na busca pelos meus sonhos e objetivos me deram força para vencer mais esta fase. A pessoa e a profissional que sou, meu caráter e meus valores são o espelho da educação que recebi de vocês, da qual o amor sempre foi a base. Vocês são meus heróis, meu orgulho e minha vida. Seus esforços foram imensuráveis. Esta vitória pertence também a vocês.

ao meu irmão Henrique,

por ser meu melhor amigo e estar sempre comigo, proporcionando momentos de descontração e felicidade. Sei que você sempre estará ao meu lado.

Muito obrigada pelo simples fato de existirem em minha vida. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar a certeza de que nada ocorre ao acaso e que ninguém passa por nossa vida inutilmente. Sei que Ele escolheu cuidadosamente cada uma das pessoas que fazem parte da minha jornada e tornam melhores os meus dias. A Ele, só posso agradecer.

À Universidade de Brasília, instituição que me proporcionou muitas oportunidades de aprendizado. Serei eternamente grata a esta casa em que escola na qual tive o privilégio de fazer grandes amizades e parcerias que levarei para toda a vida.

À Universidade Católica de Brasília, instituição que me deu a base do conhecimento e o desejo de a cada dia me aprimorar profissionalmente.

Às Profs. Dras. Lílian Marly de Paula e Ana Carolina Acevedo Poppe, pela orientação neste trabalho, ensinamentos, disponibilidade, dedicação e amizade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica pelo fornecimento de máquinas e condições para a realização dos ensaios mecânicos e, em especial ao Prof. José Alexander Araújo e à Profa. Palloma Vieira Murtelle pela disponibilidade e ensino.

Ao Prof. Ms. Gustavo Rivera, por acreditar em mim desde o início, pela parceria, disponibilidade, apoio incondicional em todos os meus sonhos e pela crença constante, até mesmo nos momentos em que nem eu acreditava. Sua amizade é de um valor imensurável em minha vida. Boa parte da profissional que sou é espelhada em seu exemplo. Obrigada por tudo.

À Ana Paula, minha amiga querida, meu braço direito e “terapeuta” nas horas vagas. Sua garra e dedicação são estímulo para buscar meus sonhos. Obrigada pela amizade e pelo convívio diário.

Aos amigos professores do Curso de Odontologia da Universidades Católica de Brasília, muito mais que uma equipe, uma verdadeira família, por me acompanharem e apoiarem nesta caminhada, pela compreensão, apoio e amizade. Cada um de vocês contribuiu muito para a realização deste sonho.

Aos amigos Dirceu, Andreas, Ticiane e Anderson, pela amizade incondicional, por tornarem meus dias no whatsapp extremamente divertidos, pelas conversas animadas, pelos conselhos de vida pessoal e profissional. Vocês são os irmãos que escolhi. Contem sempre com minha amizade, carinho e apoio.

Aos meus amigos queridos: Rafael Bicalho, Laíse, Tiago Guedes, Ana Carolina Mendes, Marcelo Tomokiti, Meire, Anne, Mikaela, Taia, Paulo Yamaguti, Catharina, Tatiana, Clara, Rafaela, Juliana, Sarah, Luna, Gabriella e Aline, por sempre me acompanharem, me apoiarem e estarem comigo em todos os momentos.

Aos pacientes do HUB que cederam seus dentes e seus casos para nossa compreensão de suas condições. Eles também tiveram sua parcela importante na realização deste sonho.

A todos os meus amigos e familiares que sempre me apoiaram e acreditaram no meu potencial.

***“Julgue o seu sucesso pelas coisas que você teve que renunciar
para conseguir.”***

(Dalai Lama)

RESUMO

O desenvolvimento dos dentes está sujeito à ocorrência de distúrbios de etiologia variável em suas diversas fases, o que pode gerar anomalias dentárias. Dentre as anomalias dentárias de caráter hereditário, que afetam a formação do esmalte e do complexo dentino-pulpar, podem ser mencionadas a Amelogênese Imperfeita (AI) e a Dentinogênese Imperfeita (DGI). As AI podem ou não estar associadas a síndromes e apresentam heterogeneidade clínica e genética. Por outro lado, a DGI pode ou não estar associada à Osteogênese Imperfeita e os defeitos dentinários envolvem alterações estruturais do tecido e defeitos de mineralização. As propriedades mecânicas de dentes afetados por estas doenças são pouco estudadas devido à dificuldade de obtenção de espécimes para a realização dos testes. No entanto, a compreensão das alterações nas propriedades mecânicas pode auxiliar na escolha e no planejamento do tratamento adequado, na maioria das vezes complexo. Este trabalho teve como objetivo avaliar a microdureza e as características ultraestruturais em esmalte e em dentina de dentes afetados por Amelogênese Imperfeita tipo Hipoplásica e Hipomineralizada e por Dentinogênese Imperfeita tipo II. Os espécimes foram agrupados em grupo controle, grupo AI e grupo DGI. Foram realizados ensaios de microdureza Vickers no sentido oclusal e cervical. Os resultados foram separados por terços e analisados estatisticamente. Os corpos de prova foram observados em Microscópio Eletrônico de Varredura em regiões de esmalte e dentina, seguindo as mesmas regiões onde foram realizadas as endentações. Os resultados foram descritos e comparados aos de dentes de pacientes não afetados. Em conclusão, foi possível observar que a microdureza no esmalte dos dentes do grupo AI foi inferior à observada no grupo controle e que havia alterações nas características ultraestruturais apenas no esmalte destes espécimes. Além disso, observou-se que a microdureza na dentina dos dentes do grupo DGI foi inferior à observada no grupo controle e as características ultraestruturais destas amostras também apresentavam-se alteradas apenas em dentina.

Palavras-chave: Amelogênese Imperfeita, Dentinogênese Imperfeita, Microdureza, Microscopia Eletrônica de Varredura.

ABSTRACT

The different phases of teeth development are subject to the occurrence of several etiology disorders, which can lead to dental anomalies. Among the hereditary dental anomalies that may affect the enamel and the dentin-pulp complex formation, Amelogenesis Imperfecta (AI) and Dentinogenesis Imperfecta (DGI) stand out. The AI may or may not be associated with syndromes and present clinical and genetic heterogeneity. On the other hand, DGI may or may not be associated with Osteogenesis Imperfecta, and teeth defects cause changes in the dentinal tissue and mineralization defects. Due to the difficulty to obtain specimens for testing, there are few studies regarding the mechanical properties of teeth affected by these diseases. However, understanding the changes in mechanical properties can assist in choosing and planning the proper treatment, which is often complex. The aim of this study was to evaluate the microhardness and the ultrastructural features in the enamel and the dentin of teeth affected by Hypoplastic and Hypomineralized Amelogenesis Imperfecta and type II Dentinogenesis Imperfecta. The specimens were divided into a control group, an AI group and a DGI group. Occlusal and cervical Vickers hardness tests were performed. The results were separated into thirds and statistically analyzed. The enamel and the dentin regions of the specimens were observed through an electron microscopy, following the same regions where indentations were performed. The results were described and compared to those of unaffected patients' teeth. It was observed that the microhardness in the enamel of the AI group was lower than the one of the control group, and that there were changes in the ultrastructural features only in the enamel of those specimens. Furthermore, it was observed that the microhardness of the dentin from the DGI group was lower than the one of the control group, and that the ultrastructural features of those samples were also altered only in the dentin.

Key words: Amelogenesis Imperfecta, Dentinogenesis Imperfecta, Microhardness, Scanning Electron Microscopy

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Desenho esquemático da peça de latão confeccionada para auxiliar no corte dos espécimes.....35
- Figura 2** – Máquina de cortes dos espécimes35
- Figura 3** – Orientação das endentações realizadas no sentido cúspide vestibular – polpa dentária.37
- Figura 4** – Endentação com medidas nas diagonais realizadas pelo software Scope Photo 2.0.4.....37
- Figura 5** – Orientação das endentações realizadas no sentido JAD – câmara pulpar.....38
- Figura 6** – Comparação intragrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em esmalte dos espécimes dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.....43
- Figura 7** – Comparação intergrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em esmalte dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.44
- Figura 8** – Comparação intragrupo e intergrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em esmalte dos espécimes localizados nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.....46
- Figura 9** – Comparação intragrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em dentina dos espécimes dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.....48
- Figura 10** – Comparação intergrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em dentina dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.....49
- Figura 11** – Comparação intragrupo e intergrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em dentina dos espécimes localizados nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.....51

Figura 12 – Comparação intergrupo das médias, erros padrão e intervalos de confiança de microdureza em área afetada da cervical dos espécimes dos dentes dos grupos controle e DGI.....	52
Figura 13 – Comparação intragrupo e intergrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em área afetada da cervical em espécimes localizados nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle e DGI.....	54
Figura 1A – Corte transversal de esmalte dentário do grupo controle - 3500x.....	56
Figura 2A – Detalhes da estrutura do esmalte dentário do grupo controle - 10000x.....	56
Figura 3A – Corte longitudinal de esmalte dentário do grupo controle - 3500x.....	56
Figura 1B – Corte transversal de esmalte dentário do grupo AI - 3500x.....	57
Figura 2B – Detalhes da estrutura do esmalte dentário do grupo AI- 10000x.....	57
Figura 3B – Corte transversal de esmalte dentário do grupo AI - 3500x.....	57
Figura 4B – Corte longitudinal de esmalte dentário do grupo AI - 10000x.....	57
Figura 5B – Corte transversal de esmalte dentário do grupo AI - 3500x.....	57
Figura 6B – Corte transversal de esmalte dentário do grupo AI - 5000x.....	57
Figura 1C – Corte transversal de dentina (grupo controle) - 500x.....	58
Figura 2C – Corte oblíquo de dentina (grupo controle) - 1000x.....	58
Figura 3C – Corte transversal de dentina (grupo DGI) - 500x.....	58
Figura 4C – Corte transversal de dentina de dente do grupo DGI - 500x.....	58
Figura 5C – Corte transversal de dentina de região cervical (grupo DGI) - 500x..	58
Figura 6C – Corte transversal de dentina de região cervical (grupo DGI) - 1500x.....	58

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em esmalte dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intragrupo.....42
- Tabela 2** – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em esmalte dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intergrupo.....44
- Tabela 3** – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em esmalte nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intragrupo.....45
- Tabela 4** – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em dentina dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intragrupo.....47
- Tabela 5** – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em dentina dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intergrupo.....49
- Tabela 6** – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em esmalte nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intragrupo.....50
- Tabela 7** – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em área afetada da cervical nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intragrupo.....53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACII – gene que codifica a proteína anidrase carbônica II

AI – Amelogênese Imperfeita

AMELX – gene que codifica a proteína amelogeninas

ANOVA – Análise da variância

C4ORF26 – Cromossomo 4 *open reading frame* 26.

CFTR – gene que codifica a proteína receptora transmembrana da fibrose cística

COL1A1 – gene que codifica a cadeia pro-alfa1 do colágeno tipo 1

COL1A2 – gene que codifica a cadeia pro-alfa2 do colágeno tipo 1

CONEP – Comitê Nacional de Ética em Pesquisa

DD – Displasia Dentinária

DF – Distrito Federal

DGI – Dentinogênese Imperfeita

DLX3 – gene que codifica a proteína *distal less homeobox* 3

DMP – proteínas morfogenéticas dentinárias

DPP – fosfoproteína da dentina

DSP – sialoproteína da dentina

DSPP – sialofosfoproteínas da dentina

ENAM – gene que codifica a proteína enamelina

FAM20A – gene que codifica a proteína *Family with sequence similarity 20, member A*

FAMH83 – gene que codifica a proteína *Family with sequence similarity 83, member H*

g – gramas

GPa – gigapascal

HMDS – hexametildisiloxano

HUB – Hospital Universitário de Brasília

JAD – junção amelodentinária

KHN – Knoop Hardness Number (valor de dureza knoop)

KLK 4 – gene que codifica a proteína kaliceína 4

LAMB3 – gene que codifica a sub-unidade 3 da proteína laminina

LSD – *Least square difference*

mm – milímetro

mm² – milímetros quadrados

MMP-20 – gene que codifica a proteína enamelisina

MS – Ministério da Saúde

n – número de amostras

NHE-1 – gene ou proteína trocadora de sódio/protons de hidrogênio

nm – nanômetro

PVC – cloreto de polivinila

SE – standard error (erros padrão, desvio padrão)

SLC4A2 – gene que codifica a proteína AE2

SLC4A4 – gene que codifica a proteína de transporte na membrana *electrogenic sodium bicarbonate cotransporter 1*

UnB – Universidade de Brasília

VHN – Vickers Hardness Number (valor de dureza vickers)

WDR72 – gene que codifica a proteína *WD repeat domain 72*

µm – micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 ODONTOGÊNESE	18
2.2 AMELOGÊNESE.....	19
2.2.1 Composição, estrutura e propriedades mecânicas do esmalte	21
2.2.2 Amelogênese Imperfeita	23
2.3 DENTINOGÊNESE.....	26
2.3.1 Composição, estrutura e propriedades mecânicas da dentina	27
2.3.2 Dentinogênese Imperfeita	30
3 OBJETIVOS	32
3.1 OBJETIVO GERAL.....	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
4 METODOLOGIA	33
4.1 SELEÇÃO DAS AMOSTRAS.....	33
4.1.1 Grupos testes (Grupo AI e DGI)	34
4.2 PREPARO DA AMOSTRA	35
4.2.1 Obtenção da amostra	35
4.2.2 Obtenção dos espécimes	35
4.2.3 Preparo dos espécimes para os ensaios de microdureza	36
4.3 ENSAIOS DE MICRODUREZA.....	36
4.3.1 Análise estatística	39
4.4 ETAPA HISTOLÓGICA	40
4.4.1 Preparo dos espécimes para microscopia eletrônica de varredura	40
4.3.2 Análise histológica	40
5 RESULTADOS	41
5.1 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM ESMALTE ENTRE DENTES E ENTRE GRUPOS.....	41

5.2 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM ESMALTE ENTRE TERÇOS DOS DENTES DOS GRUPOS.....	45
5.3 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM DENTINA ENTRE OS DENTES ENTRE OS GRUPOS.....	46
5.4 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM DENTINA ENTRE TERÇOS DOS DENTES DOS GRUPOS.....	50
5.5 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM DENTINA EM ÁREA CERVICAL.....	51
5.6 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM DENTINA EM ÁREA CERVICAL POR TERÇOS.....	52
5.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA EM ESMALTE	54
5.8 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA EM DENTINA	55
6 DISCUSSÃO.....	59
7 CONCLUSÕES.....	65
8 REFERÊNCIAS	66
ANEXO – DOCUMENTO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	73

1 INTRODUÇÃO

A amelogênese e a dentinogênese são os processos complexos, dinâmicos e coordenados que dão origem aos tecidos mineralizados dentários esmalte e dentina, respectivamente. Estes processos possuem diversas fases que são sensíveis a fatores de origem sistêmica, ambiental ou genéticos durante o desenvolvimento desses tecidos e que podem produzir anomalias dentárias com fenótipo heterogêneo (1).

Por meio da amelogênese ocorre a formação do esmalte, que é um tecido de alto conteúdo inorgânico representado por cristais de fosfato de cálcio sob a forma de hidroxiapatita, contida nos prismas. Estudos têm provado que a composição mineral influencia diretamente essas propriedades mecânicas apresentadas individualmente pelos tecidos, podendo ser constatadas diferenças na dureza, módulo de elasticidade e resistência à fratura do tecido (2,3).

A dentina é originada a partir da dentinogênese e possui grande conteúdo mineral, na forma de cristais de hidroxiapatita carbonatada, porém em menor quantidade do que o esmalte. Há também uma matriz orgânica rica em fibras colágenas, principalmente do tipo I além de proteínas não colagênicas. Esse tecido possui dureza maior que a do osso e menor que a do esmalte. A dentina possui estrutura tubular que lhe confere certa resiliência de modo a amortecer as forças mastigatórias, o que reduz a possibilidade de fraturas dentárias. Esses mesmos túbulos conferem à dentina uma alta permeabilidade a fluidos e moléculas, assim como à invasão microbiana (4,5).

A Amelogênese Imperfeita (AI) e a Dentinogênese Imperfeita (DGI) são alterações no desenvolvimento desses tecidos que podem ocorrer quando há distúrbios nesses processos gerando manifestações clínicas específicas e podendo ou não estar associadas a outras doenças. Os principais comprometimentos causados por essas doenças são funcional e estético. Observa-se, em pacientes afetados por estas condições que os dentes são mais frágeis a fraturas e, em alguns casos, apresentam colorações alteradas, presença de manchas e/ou cavitações. Os estudos de prevalência dessas doenças são da década de 1980 e apresentam valores muito díspares, variando desde 1:800 a

1:14000 em Amelogênese Imperfeita e 1:6000 a 1:8000 em Dentinogênese Imperfeita (6-8). A compreensão das características específicas desses tecidos auxilia no entendimento do que pode estar causando estas falhas mecânicas e manifestações clínicas para planejar de forma mais adequada os tratamentos necessários.

A dureza diz respeito à capacidade do material de resistir quando é feita uma endentação. Corresponde à resistência que um determinado material tem à deformação plástica tipicamente medida sob a ação de uma carga de penetração (9). Os estudos de dureza dispõem de técnicas de microendentação, como Vickers e Knoop (2). Seu resultado é dado pela carga aplicada dividida pela área projetada pela endentação e o que as diferencia é o formato da endentação, sendo a Vickers semelhante a um losango e a Knoop um losango alongado. Essa propriedade mecânica reflete um dos comportamentos dos dentes frente às cargas oclusais impostas pela oclusão. Estudos têm demonstrado que as propriedades mecânicas desses tecidos podem apresentar-se alteradas, nestes casos apresentando menor microdureza (10,11).

A compreensão das propriedades mecânicas dos tecidos mineralizados dentários como dureza e módulo de elasticidade pode conduzir ao melhor entendimento do comportamento destes tecidos em oclusão. Há poucos estudos acerca do tema devido a grande dificuldade em se conseguir as amostras para tal e a escassez de estudos acerca do tema é de grande importância para uma melhor abordagem terapêutica.

Considerando o exposto, o objetivo deste trabalho é avaliar a microdureza e as características ultraestruturais em esmalte e em dentina de dentes afetados pelas condições com hipótese diagnóstica de Amelogênese Imperfeita tipo Hipoplásica e Hipomineralizada e com diagnóstico de Dentinogênese Imperfeita tipo II, a fim de contribuir para o conhecimento específico da microdureza desses tecidos e conhecer as características histológicas das regiões avaliadas, devido a escassez de estudos que tratem desta temática.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ODONTOGÊNESE

A odontogênese corresponde ao processo de formação dos dentes. Ocorre como resultado de uma série de interações complexas geneticamente determinadas entre o epitélio oral e o ectomesênquima subjacente. O conhecimento desse processo é fundamental para o entendimento dos distúrbios do desenvolvimento dentário. Podem ser definidas cinco fases da formação da coroa dentária: lâmina dentária, botão, capuz, campânula e campânula tardia. Após a formação coronária, inicia-se a formação radicular que termina após a erupção dentária (1,5,12,13).

Por volta da quinta semana de vida intrauterina, as células do epitélio oral primitivo proliferam e invadem o ectomesênquima adjacente dando origem ao cordão epitelial. Este se bifurca originando as lâminas vestibular e dentária. A lâmina vestibular dará origem ao fundo de sulco vestibular e aos arcos dentários e a lâmina dentária será responsável pela formação dos dentes. Em seguida, na fase de botão, ocorre uma proliferação uniforme e regulada das células epiteliais, além de uma condensação ectomesenquimática. Gradualmente, essa proliferação passa a ser desigual e o órgão dentário deixa de estar na fase de botão e adquire uma superfície côncava, caracterizando o estágio de capuz. Uma vez estabelecida a fase de capuz, é possível observar-se os componentes no germe dentário, que são o órgão do esmalte, papila dentária e folículo dentário. O órgão do esmalte é composto pelo epitélio externo, retículo estrelado e epitélio interno que, após diferenciação, formarão o esmalte. As células ectomesenquimais condensadas subjacentes ao epitélio interno do órgão do esmalte constituem a papila dentária, que formará o complexo dentino-pulpar (1,5).

As células adjacentes à papila dentária e as que revestem externamente o órgão do esmalte sofrem uma condensação de modo que suas células alinham-se ao redor do germe em desenvolvimento. Essa condensação periférica é chamada de folículo dentário, responsável pela formação do cimento, ligamento periodontal e osso alveolar. Passa-se então para o estágio de campânula, onde a proliferação

celular diminuir, finalizando a morfogênese e começando a histodiferenciação das células do germe dentário. Inicia-se a formação de algumas dobras no epitélio interno do órgão do esmalte, que determinam a forma da futura coroa do dente. Por fim, ocorre a fase de campânula tardia ou coroa, na qual as células da camada mais externa da papila dentária diferenciam-se em odontoblastos, que iniciarão a secreção de matriz orgânica de dentina e, posteriormente, as células do epitélio interno do esmalte alongam-se e diferenciam-se em ameloblastos, que são as futuras células formadoras do esmalte. Há deposição centrífuga de esmalte e centrípeta de dentina e estabelecimento da junção amelodentinária (JAD), culminando na formação da coroa dentária. Esta fase é seguida pela fase de raiz, que ocorre pela proliferação apical das células dos epitélios interno e externo do órgão do esmalte, constituindo a alça cervical, a partir da qual se originará a bainha radicular de Hertwig, responsável por induzir a formação da futura raiz (5, 12, 14-16).

2.2 AMELOGÊNESE

A amelogênese é um processo de biomineralização dinâmico, complexo e coordenado que resulta na formação do esmalte dentário. As células que regulam este processo são os ameloblastos que se diferenciam do epitélio dentário interno, parte integrante do órgão dentário. A amelogênese é iniciada após a deposição da primeira camada de dentina, na fase de campânula tardia, pois o esmalte recém-formado é depositado sobre a dentina. O esmalte dentário difere de outros tecidos duros por ser de origem ectodérmica, possuir uma matriz orgânica peculiar e um padrão de mineralização distinto (5,17).

Este processo envolve três fases: pré-secreção, secreção e maturação. No estágio pré-secreção, ocorre a morfodiferenciação dos ameloblastos e a secreção da matriz orgânica do esmalte que se mineraliza, quase imediatamente, de tal forma que a constituição do esmalte primário seja de aproximadamente 65% de água, 20% de material orgânico (proteína) e 15% de material inorgânico (apatita). Esta secreção é contínua até a deposição, em sua quase total espessura,

com pouca modificação na matriz, o que caracteriza o segundo estágio da amelogenese. A primeira camada de esmalte secretada é conhecida como esmalte inicial e esse primeiro aporte mineral do esmalte marca uma alteração celular nos ameloblastos: o desenvolvimento dos processos de Tomes, que são prolongamentos citoplasmáticos com atividade secretora. A secreção feita pelo processo de Tomes ocorre em duas regiões distintas: a porção apical, responsável pelo desenvolvimento do esmalte prismático, e as porções laterais, responsáveis pela formação do esmalte interprismático. A orientação dos cristais é a única diferença entre os esmaltes prismático e interprismático. A mineralização da matriz recém-secretada ocorre em aproximadamente 30% do seu volume e podem ser identificados cristais de hidroxiapatita (5,17-19).

Inicialmente, essa matriz é constituída por duas classes de proteínas: amelogeninas, envolvidas com a formação de 90% da matriz orgânica do esmalte e as não-amelogeninas – enamelin, ameloblastina, tuftelina, amelotina, Kalikreina 4 (KLK4) e enamelisina (MMP-20) – que constituem os 10% restantes. Estudos sugerem que as amelogeninas formem nanosferas que direcionam o crescimento dos primeiros cristais de esmalte (20). Já as funções das proteínas não-amelogeninas ainda não estão completamente elucidadas (21-23). A quantidade de matriz orgânica secretada determina qual será a espessura final do esmalte. Os cristais de hidroxiapatita depositados nessa matriz são finos e alongados, com seu comprimento final já definido. À medida que a matriz vai sendo secretada, os cristais crescem em largura. Dessa forma, a matriz do esmalte mineraliza-se em cerca de 30% mas ainda possui consistência mole. A formação do esmalte é contínua até que se depositem suas últimas camadas de esmalte e, finalmente, o esmalte aprismático superficial ou esmalte externo. Após essa deposição, os ameloblastos reduzem sua altura, diminuindo as organelas relacionadas à síntese secreção, por meio de mecanismos de autofagia (5,17,21,24,25).

No momento em que o esmalte atinge sua espessura máxima nas pontas das cúspides, a matriz passa para o estágio de maturação, que consiste no aumento de cristais minerais e perda de proteínas e água, o que torna o esmalte altamente mineralizado, mas ainda bastante poroso. Esse processo é controlado pelos ameloblastos que, nesse momento, retraem os processos de Tomes, seguido por um rearranjo da sua estrutura interna e redução da altura celular em

aproximadamente 50% e entram em um fenômeno cíclico, no qual há alternância da localização das junções oclusivas, da anatomia das bordas apicais e do pH (26). A maturação inicia-se na junção amelo-dentinária e irradia-se em direção à superfície externa. A remoção proteica durante a maturação é seletiva, removendo-se as amelogeninas, restando as não-amelogeninas, que possuem elevado peso molecular e estão intimamente ligada às superfícies dos cristais de apatita. Ocorre influxo de íons, principalmente cálcio e fosfato e reabsorção de produtos degradados da matriz do esmalte. Essa degradação da matriz proteolítica é realizada pela MMP-20 que continua a ser secretada e pela KLK-4 que passa a ser secretada nessa fase (5,19).

Um fato significativo que ocorre no processo de maturação é a oscilação do pH do fluido que circunda o esmalte entre 6 e 7,2 que é uma flutuação semelhante à que o dente estará sujeito no processo de erupção na cavidade oral. Os cristais de esmalte não são estruturalmente homogêneos. Os que são mais suscetíveis à dissolução por ácido, como os que possuem alto conteúdo carbonato, são removidos seletivamente durante a parte de baixo pH do ciclo. Sendo assim, durante a maturação ocorre um processo evolutivo no qual o mineral menos ácido-resistente é substituído por uma apatita mais ácido-resistente (19)

Por fim, com o processo de maturação do esmalte completo, os ameloblastos passam a proteger e isolar o esmalte maduro do tecido conjuntivo subjacente até a erupção do dente na cavidade bucal, quando essa camada celular é perdida (19).

2.2.1 Composição, estrutura e propriedades mecânicas do esmalte

O esmalte maduro diferencia-se dos demais tecidos por ser o único tecido mineralizado completamente acelular (19). Os prismas de esmalte possuem de 4 a 7 μm e são originados perpendiculares à junção amelo-dentinária em formato cilíndrico, com leves ondulações, desde a junção amelo-dentinária até a superfície externa. A disposição dos cristais que formam os prismas deve-se à direção da movimentação dos ameloblastos durante a fase secretora (21). Os cristais de hidroxiapatita carbonatada arranjam-se de modo que os prismas fiquem muito

próximos uns dos outros, separados pelo esmalte interprismático (27).

Estudos têm mostrado que o esmalte é altamente anisotrópico (28) e suas propriedades mecânicas dependem do tipo e direção do estímulo aplicado, assim como a orientação dos prismas de esmalte, sendo mais comuns as fraturas paralelas aos prismas de esmalte (29). Sua composição o faz um tecido extremamente friável, apesar de sua dureza. A dentina subjacente, por ser um tecido mais resiliente, confere sustentação e reduz a possibilidade de fratura durante a mastigação. Além disso, o esmalte dentário, devido a organização prismática e disposição dos cristais, possui estrutura quase cristalina o que gera uma aparência translúcida. Essa característica possui grande influência na coloração do dente uma vez que a sua translucidez e espessura permitem a visualização da coloração da dentina, principalmente na região cervical, que é onde a camada de esmalte é mais fina. Regiões com maior espessura de esmalte são mais opacas e apresentam coloração branco-azulada ou acinzentada (30,31).

A dureza do esmalte deve-se a seu alto conteúdo inorgânico (97%) representado por cristais de fosfato de cálcio sob a forma de hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH}_2)$], com quantidades de carbonato, sódio, magnésio, cloreto, potássio e flúor com 1% de material orgânico de natureza basicamente proteica, com escassos carboidratos e lipídeos e por 2% de água e a fragilidade ao alto módulo de elasticidade e baixa força de tração. O que impede sua fratura sob as forças mastigatórias normais são as propriedades mecânicas da dentina (19,30).

Acredita-se que a composição mineral influencie diretamente essas propriedades mecânicas apresentadas pelos tecidos (9,32). A incorporação de carbono, magnésio, sódio e flúor à estrutura da apatita dos cristais de esmalte resulta em alterações físico-químicas e propriedades mecânicas no esmalte (11). Dependendo da região, composição química e orientação prismática foram constatadas diferenças na dureza, módulo de elasticidade e resistência à fratura do tecido (2,33).

Em geral, maiores módulos de elasticidade estão relacionados à maior dureza. O esmalte dentário possui módulo de elasticidade entre 80 e 90 GPa, dureza média variável entre 272 a 440 KHN, além de baixa resistência à tração, apresentando-se como um tecido altamente friável, o que propicia a ocorrência frequente de trincas (2). Aparentemente, as fraturas em esmalte ocorrem no

esmalte interprismático, que é importante na absorção de energia das tensões aplicadas sobre o tecido, o que confere certa resistência à fratura no esmalte. (34). No entanto, a exposição ao flúor e a outros íons no ambiente bucal promovem a substituição da matriz carbonatada por apatita fluoretada, aumentando a densidade tissular, reduzindo a permeabilidade do tecido e aumentando sua dureza (35).

2.2.2 Amelogênese Imperfeita

Durante a amelogênese podem ocorrer alterações e defeitos de desenvolvimento, de etiologia variável, podendo incluir fatores locais, sistêmicos, genéticos e ambientais (8,36). É geralmente aceito que as alterações, como uma deposição inadequada da matriz do esmalte durante a fase secretora da amelogênese, resultem em hipoplasia de esmalte onde é observada como uma camada patologicamente mais fina, podendo apresentar-se na forma de pontos ou depressões, linhas horizontais ou até ausência completa do tecido, o que caracteriza um defeito quantitativo (11,16). A distribuição dos defeitos pode ser localizada ou generalizada (37,38) sendo sua forma mais grave a ausência, na qual praticamente não é possível observar esmalte tanto no aspecto clínico quanto no radiográfico (16,39).

Já os distúrbios na fase de maturação do esmalte resultam em esmalte de espessura normal porém menos mineralizado, denominado opacidade, com alteração na translucidez que pode ser restrita ou difusa, o que caracteriza um defeito qualitativo. O esmalte apresenta-se mais opaco, podendo ser quebradiço, mais poroso e com tendência a pigmentações extrínsecas. As opacidades do esmalte dentário são resultantes de falhas no processo de mineralização, defeitos no processamento proteico e no crescimento no diâmetro cristalino. Nos casos mais graves de hipomineralização o esmalte apresenta espessura normal, mas em virtude de sua rugosidade e friabilidade, o tecido fratura-se ou desgasta-se rapidamente após a erupção dental. Nesses casos, os pacientes podem apresentar hipersensibilidade dentinária, tendência a formação de cálculo e, geralmente, desenvolvem uma periodontite severa e crônica, além de

apresentarem dimensão vertical de oclusão reduzida devido à abrasão dental (11,16).

A Amelogênese Imperfeita foi definida como uma doença hereditária com presença de defeitos de esmalte, sem a presença de desordens sistêmicas ou defeitos morfológicos e metabólicos em qualquer outro sistema corporal, que pode afetar ambas dentições, decídua e permanente, causando vários graus de hipoplasia, hipomineralização ou a associação destas a outras alterações sistêmicas ou síndromes. Sua prevalência varia bastante dependendo da população estudada, sendo encontrados valores que variam de 1:800 a 1/14.000 (7,8). No entanto, atualmente, a AI é definida como um grupo de condições hereditárias que pode afetar qualitativa e/ou quantitativamente o esmalte dentário, associado, ou não, a outras alterações sistêmicas ou síndromes. Dentre as desordens que podem apresentar AI estão doenças renais associadas ou não à nefrocalcinose, doenças gastrointestinais, desnutrição e desordens metabólicas em geral. (40,41) .

A AI possui grande diversidade na manifestação clínica e heterogeneidade genética. O esmalte afetado pode apresentar distúrbios na lisura, resistência, coloração, espessura e dureza. Os pacientes em geral possuem baixa autoestima em virtude da aparência estética dos dentes e sorriso, e apresentam dificuldades em manter uma boa higiene oral (16).

A diversidade fenotípica desses defeitos resultou na elaboração de classificações em até 14 diferentes subtipos de AI (8), sendo reconhecidos três grupos principais: hipoplásico, hipomaturado e hipocalcificado (42). No entanto, a separação fenotípica nem sempre é tão clara quanto a classificação sugere (36,43).

Os casos de AI não sindrômica resultam de mutações que causam alterações em algumas proteínas envolvidas na formação do esmalte. Na última década foram identificadas mutações em alguns dos genes que codificam proteínas da matriz do esmalte. Estes são o *AMELX* (gene responsável pela codificação da proteína amelogenina), *ENAM* (gene que codifica a proteína enamelinina), *KLK-4* (gene responsável pela codificação da proteína kaliceína-4, que é uma protease responsável pela degradação das amelogeninas), *MMP-20* (gene que codifica a enamelinina que é uma metaloproteinase dependente de

cálcio). Além disso, foram identificadas nas famílias com AI, mutações em genes que codificam proteínas sem função esclarecida na amelogênese. Dentre esses genes, estão *FAMH83*, *WDR72*, *DLX3*, *C4ORF26* (44-51).

Em se tratando de bases moleculares das AI sindrômicas, mutações no gene *FAM20A* estão associadas com AI e hiperplasia gengival (52) e uma mutação no gene *LAMB3* foi identificada como causadora de AI dominante hipoplásica (53). Alguns autores sugerem que sejam estudados também os genes *SLC4A2*, *SLC4A4*, *NHE1*, *ACII* e *CFTR* para diagnósticos em que a etiologia não está bem definida (54).

Devido ao fato de as bases moleculares ainda não estarem completamente elucidadas para todos os tipos de AI, o diagnóstico atual é baseado em manifestações clínicas e radiográficas, na análise de antecedentes familiares e, quando possível, pelo modo de herança genética. Na maioria dos casos, há dificuldade de obtenção da história familiar detalhada por meio do exame dos familiares e muitos deles já apresentam dentes com tratamento reabilitador, o que dificulta o diagnóstico definitivo da AI (40).

Estudos de microscopia eletrônica de varredura do esmalte de dentes afetados por AI tipo hipoplásica revelaram micro cavidades bem delimitadas em áreas amolecidas ou áreas aprismáticas assim como porosidades e depressões além das áreas hipoplásicas apresentarem estrutura de favo de mel com textura granular que, presumivelmente, ocorre pela dissociação de cristais e prismas desorientados. Alguns autores sugerem que a irregularidade na morfologia dos cristais pode estar relacionada com as funções alteradas dos ameloblastos e que as regiões de *imprints* podem ser devido à uma ausência da produção de matriz orgânica pelos ameloblastos (55-57). As ranhuras dos prismas, perpendiculares ao longo eixo dos mesmos podem ser explicadas como segmentação dos prismas indicativa de hipomineralização (58-60). Os prismas podem apresentar tamanhos diferentes e os cristais podem apresentar-se amorfos e desordenados e com tamanhos de prismas diferentes, sem limites definidos (11).

Já a microscopia eletrônica de transmissão apresenta alterações na morfologia dos prismas e espaços interprismáticos aumentados. No entanto é discutido se estes não seriam artefatos produzidos pela secção dental e uso do tipo de resina usada na preparação dos espécimes, tal como o metacrilato (55).

Devido à dificuldade em obtenção de amostras, as propriedades do esmalte com alterações no desenvolvimento são pouco estudadas. Alguns estudos demonstram que tanto a dureza do esmalte hipoplásico quanto o módulo de elasticidade ($0,53 \pm 0,31$ e $14,49 \pm 7,56$ GPa, respectivamente) são consideravelmente menores quando comparados aos mesmos dados em amostras de esmalte hígido ($3,66 \pm 0,75$ e $75,57 \pm 9,98$ GPa, respectivamente (11,61). Faria-e-Silva *et al.* (62) verificaram um valor de dureza Knoop em esmalte afetado por amelogenese imperfeita do tipo hipocalcificado em torno de 53,3 KHN, consideravelmente menor que o valor encontrado em esmalte não afetado, acima de 300 KHN. Existe uma correlação positiva entre a dureza e o módulo de elasticidade e o conteúdo mineral dos tecidos dentários (63,64). Já foi evidenciada maior incorporação de carbono em molares hipoplásicos e o aumento do conteúdo orgânico do esmalte, com menor concentração de cálcio e fósforo, pode estar associado à redução dos valores de dureza encontrados (11).

4.3 DENTINOGENESE

A dentinogênese é o processo altamente controlado de formação da dentina, que é um tecido mineralizado de natureza conjuntiva e constitui a maior parte da estrutura do dente. As células que regulam a dentinogênese são os odontoblastos, células ectomesenquimais da papila dentária. Sua função é a síntese, secreção e controle da mineralização da matriz dentinária durante e após a formação do dente. A formação de dentina inicia-se quando as células periféricas da papila dentária sofrem diferenciação celular, transformando-as em pré-odontoblastos e odontoblastos. A primeira camada da dentina produzida é a dentina do manto, que possui aproximadamente 150µm. Os odontoblastos secretam, então, a matriz extracelular dentinária, que é rica em fibras de colágeno do tipo I associadas à substância fundamental amorfa (4,15,65).

Durante a formação da dentina do manto, ocorre a mineralização inicial da dentina por meio das vesículas da matriz, que são várias pequenas esferas de 50 a 150 nm de diâmetro que abrigam cristais de apatita que crescem rapidamente e

fundem-se entre si, tornando a matriz mineralizada. Seu imbricamento com a matriz de esmalte, recém-secretada pelos ameloblastos, determinará a formação da junção amelodentinária (4,66-69).

Após a deposição da dentina do manto, a dentina circumpulpar continua sua formação. A mineralização da dentina circumpulpar não depende da presença de vesículas da matriz mas da secreção de proteínas não colagênicas que modulam a mineralização inter e intrafibrilar. A dentina circumpulpar é constituída por fibrilas colagênicas mais finas e mais densamente compactadas em comparação às encontradas na dentina do manto. O resultado é uma matriz orgânica, calcificada com cristais de hidroxiapatita, e através da qual correm prolongamentos citoplasmáticos dos odontoblastos, que ficam envolvidos pela dentina recém-mineralizada e ocupam os túbulos dentinários. Uma matriz não mineralizada, a pré-dentina, de aproximadamente 15 a 20 μm de espessura, permanece presente, justaposta à camada de odontoblastos (5,15).

Os prolongamentos odontoblásticos, em seguida, diminuem em diâmetro e são responsáveis pela deposição de um colar de dentina altamente mineralizada (95% em volume), de 0,5 a 1,0 μm de espessura, em torno de si, no espaço criado com a retração, que é chamado dentina peritubular. Há deposição contínua da dentina peritubular por toda a vida. A dentina encontrada entre os túbulos dentinários é denominada intertubular. Esse tipo de dentina é menos mineralizado que a dentina peritubular, com aproximadamente 30% do seu volume constituído por mineral (4).

2.3.1 Composição, estrutura e propriedades mecânicas da dentina

A dentina é um tecido mineralizado e avascular que possui prolongamentos dos odontoblastos que se situam dentro dos túbulos. Possui cerca de 70% do seu peso de conteúdo mineral, na forma de hidroxiapatita carbonatada, sendo os 18% restantes de material orgânico e aproximadamente 12% de fluido dentinário pobremente organizado. Em termos de volume, as mesmas porções (inorgânica, orgânica e fluido) representam 50%, 30% e 20%, respectivamente (4).

Os túbulos dentinários são distribuídos de forma radial, seguindo uma

curvatura em S, a partir da polpa até a JAD, e as fibrilas de colágeno interfibrilar estão orientadas perpendicularmente aos túbulos dentinários (70). O diâmetro dos túbulos varia de 0,8 e 3,0 μm entre a JAD e a região próxima à polpa, respectivamente. O número de túbulos dentinários é, dessa forma, maior por área na região de pré-dentina, próxima à câmara pulpar, e menor por área, na junção amelodentinária. Estima-se aproximadamente 15.000/ mm^2 túbulos na dentina periférica (próxima à JAD), 25.000/ mm^2 na região central e 55.000/ mm^2 próximo à polpa (4). Os lúmens dos túbulos possuem em torno de 1 μm de diâmetro e são envolvidos por um cilindro de dentina peritubular hipermineralizada, composta principalmente por apatita, que possui cerca de 0,5 a 1,5 μm em espessura (71).

A constituição básica da fase inorgânica do tecido dentinário são os cristais de hidroxiapatita, que podem apresentar estruturas e composições variadas, quando associados aos íons carbonato, citrato, sódio, magnésio, potássio, cloreto e flúor (72). Os cristais de hidroxiapatita encontram-se intimamente associados com a matriz orgânica colagênica (8). A porção mineral da dentina ocupa duas regiões na malha de fibrilas de colágeno: intrafibrilar e interfibrilar, esta última constituindo a maior parte da mineralização dentinária (9,31). Já a matriz orgânica é composta por colágeno, aproximadamente 90%, sendo 85% do tipo I. Os 10% restantes da matriz orgânica da dentina são constituídos pelas chamadas proteínas não-colagênicas que são as fosfoproteínas dentinárias (DPP), sialoproteínas dentinárias (DSPs), proteínas morfogenéticas dentinárias (DMPs), Gla-proteínas (osteocalcinas), proteoglicanas, glicoproteínas ácidas (osteonectina) e proteínas séricas (73). A relação que ocorre entre a porção proteica não-colagênica e a colagênica é fundamental para o pleno desenvolvimento do tecido dentinário. A fosfoproteína da dentina (DPP) e a sialoproteína da dentina (DSP) são proteínas não-colagênicas e acídicas presentes na matriz orgânica que são expressas a partir do mesmo precursor, a Sialofosfoproteína da dentina (DSPP) (74). Acredita-se que as DPPs sejam nucleadoras potenciais de mineralização dentro da matriz dentinária quando associadas às fibrilas de colágeno e que participam na biomineralização dentinária, modulando a formação dos cristais de hidroxiapatita na matriz e podendo, ainda, regular o tamanho e formato destes cristais. Já quanto às DSPs, acredita-se que sejam promotoras da precipitação de hidroxiapatita. Por estes motivos, a

sialofosfoproteína da dentina (DSPP) tem um papel importante na dentinogênese normal e patológica (74).

Devido a sua estrutura tubular, a dentina é um tecido que possui certa resiliência, desempenhando importante papel na sustentação do esmalte, amortecendo as forças da mastigação, reduzindo, desse modo, a possibilidade de fraturas (4,5). Foi demonstrado que as propriedades mecânicas da dentina são dominadas pela dentina intertubular (71).

A dentina também é um tecido anisotrópico devido a suas propriedades variarem de acordo com densidade e orientação tubular, grau de mineralização, permeabilidade e umidade tecidual, além da quantidade, tamanho, estrutura e aglomeração das partículas de hidroxiapatita nas diferentes regiões dentinárias (64,70,71). Enquanto os cristais de hidroxiapatita conferem força, as fibrilas de colágeno conferem resistência ao tecido dentinário (75).

A dentina possui módulo de elasticidade entre 17 a 22 GPa, quase sempre determinado pela matriz da dentina intertubular devido à dificuldade de fazer as nanoindentações em regiões tubulares, que acabam por contribuir de maneira superficial com as propriedades mecânicas (9, 32, 64, 71). Seu maior conteúdo orgânico proporciona menor módulo de elasticidade e menor dureza, comparados ao esmalte (76). Há, também, diminuição da espessura das partículas de mineral, que pode ser correlacionada com o aumento do conteúdo mineral e, conseqüentemente, com o aumento da dureza e do módulo de elasticidade. O tamanho reduzido dos cristais minerais gera um aumento da concentração dessas substâncias entre as fibrilas colagênicas, resultando na mineralização intrafibrilar (64).

O conteúdo mineral da dentina próximo a JAD diminui e a espessura dos cristais aumenta. Tanto a dureza quanto o módulo de elasticidade diminuem em direção à JAD. Sendo assim, a dentina do manto, que é a primeira camada após a JAD, apresenta levemente reduzida dureza, quando comparada à dentina circumpulpar, com evidências de menor conteúdo mineral no tecido. Essa menor dureza é acompanhada de menor módulo de elasticidade na região próxima à JAD, consistindo em um obstáculo efetivo para a propagação de trincas (64).

2.3.2 Dentinogênese Imperfeita

Os defeitos hereditários em dentina podem ser classificados em dois tipos, com base em aspectos clínicos e radiográficos sendo estes a dentinogênese imperfeita (DGI) e a displasia dentinária (DD) (69). A DGI é a condição mais comum dentre os defeitos dentinários hereditários e afeta ambas dentições. A DGI pode ser classificada em tipos I, II e III. A DD pode ser classificada em tipos I e II (69). Segundo a classificação de Shields, a DGI pode ser classificada, clínica e radiograficamente, em três subgrupos principais: Tipos I, II e III (77).

A DGI do tipo I caracteriza-se por apresentar alterações dentinárias associadas à presença de osteogênese imperfeita (OI), que é uma desordem autossômica dominante com a presença de fragilidade óssea, que ocorre devido a defeitos na estrutura do colágeno. É causada por mutações heterogêneas nos genes *COL1A1* e *COL1A2*, responsáveis pela codificação das cadeias alfa de colágeno tipo I.

Classifica-se como sendo do tipo II quando não há manifestações sistêmicas encontradas, sendo assim, exclusivamente dentária. A incidência estimada é de 1/6000 a 1/8000 nos Estados Unidos (6). Os dentes decíduos costumam ser mais afetados que os permanentes. Clinicamente, os dentes apresentam coloração azul acinzentada ou marrom opalescente, constrição cervical acentuada, fratura do esmalte o que expõe a dentina e facilita a atrição e, radiograficamente, polpa atrésica e apresentando canais obliterados e raízes com comprimento reduzido. Histologicamente, a dentina apresenta-se com túbulos irregulares, áreas com ausência de túbulos (69,78). Há presença de áreas amorfas na região tubular e irregularidade dos túbulos dentinários (79). Podem estar presentes regiões com túbulos dentinários e bem formados coexistindo com regiões dentinárias com pobre orientação tubular e menor quantidade, além de poderem não estar completamente formados em dentes afetados. Outras características que podem estar presentes são opacidades difusas, alterações na morfologia radicular, lesões periapicais sem causa aparente (80). Nos dentes afetados pelas DGI tipos I e II, as características clínicas e radiográficas são muito semelhantes.

O tipo III foi observado numa comunidade em Brandywine, Maryland (8).

Este tipo também não possui envolvimento sistêmico. As características clínicas são semelhantes ao tipo II, porém radiograficamente os dentes afetados apresentam, em vez de obliterações pulpares, câmaras pulpares aumentadas (69). Acredita-se que os tipos II e III seriam expressão variável da mesma condição.

Estudos moleculares de famílias com DGI tipos II e III e Displasia Dentinária (DD) tipo II identificaram mutações no gene que codifica a sialofosfoproteína dentinária (*DSPP*). Até o presente, todas as famílias relatadas na literatura com DGI-II e III assim como DD-II estão associadas a mutações no gene *DSPP*, sendo a DD tipo II o fenótipo mais leve e a DGI tipo III, o mais grave (69).

A porção inorgânica da DGI é composta, principalmente, por hidroxiapatita carbonatada pobremente cristalizada. Além disso, há diminuição significativa no conteúdo de magnésio, o tamanho e forma dos cristais não se encontram alterados, mas a quantidade de cristais é reduzida e, ainda, apresenta uma quantidade de água 60% superior à média encontrada em dentina não-afetada. Em microscopia eletrônica de varredura foram observados espaços intercristalinos aumentados (81).

As propriedades mecânicas da dentina afetada por DGI são praticamente desconhecidas. Ao avaliar-se o módulo de elasticidade, a dureza e a concentração mineral em espécimes afetados por DGI-II, constatou-se que o módulo de elasticidade e a dureza da dentina afetada são menores quando comparados aos espécimes de dentes não-afetados. Pôde ser estabelecida uma relação diretamente proporcional entre o módulo de elasticidade e a dureza com a concentração mineral em espécimes afetados ou não-afetados desidratados, mas essa relação não foi verificada com espécimes hidratados (82). Foi constatado que dentes afetados por DGI-II possuem ausência de mineralização intrafibrilar, sugerindo-se que esta mineralização seja muito relevante para a elasticidade e dureza do tecido, mesmo que corresponda à menor parte da quantidade de mineral encontrada no tecido dentinário (83).

5 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar a microdureza e as características ultraestruturais em esmalte e dentina de dentes afetados pelas condições com hipótese diagnóstica de Amelogênese Imperfeita do tipo Hipoplásica e Hipomineralizada e com diagnóstico de Dentinogênese Imperfeita tipo II.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Testar as seguintes hipóteses:

- 1 – A microdureza no esmalte de dentes com hipótese diagnóstica de Amelogênese Imperfeita do tipo Hipoplásica e Hipomineralizada é inferior à observada em esmalte de dentes afetados pela condição de Dentinogênese Imperfeita tipo II e de dentes não afetados.
- 2 – A microdureza na dentina de dentes afetados pela Dentinogênese Imperfeita tipo II é inferior à observada em dentina de dentes afetados pela condição de Amelogênese Imperfeita tipo Hipoplásica e Hipomineralizada e de dentes não afetados.
- 3 – Há alterações nas características ultraestruturais em dentes com hipótese diagnóstica de Amelogênese Imperfeita do tipo Hipoplásica e Hipomineralizada apenas em esmalte.
- 4 – Há alterações nas características ultraestruturais em dentes afetados por Dentinogênese Imperfeita tipo II apenas em dentina.

6 METODOLOGIA

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), Ministério da Saúde – MS, no dia 13 de outubro de 2009, sob o protocolo de número 078/09 (Anexo 1).

4.1 SELEÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram utilizados terceiros molares de indivíduos entre 17 e 25 anos, semi ou totalmente erupcionados, sem função oclusal, a fim de que a formação fisiológica de dentina secundária, assim como processos de desmineralização ou desgaste dentário, não influenciassem os resultados. A amostra foi selecionada mediante análise prévia de radiografias panorâmicas e periapicais de indivíduos com dentes hígidos, de dois indivíduos de uma mesma família com diagnóstico clínico de Amelogênese Imperfeita tipo Hipomineralizada com áreas Hipoplásicas e de dois indivíduos de uma mesma família com diagnóstico de Dentinogênese Imperfeita tipo-II, cadastradas no Centro de Anomalias do Desenvolvimento Dentário do Hospital Universitário de Brasília – HUB. Foi realizada uma avaliação clínica dos indivíduos afetados que possuíam terceiros molares hígidos com indicação de exodontia por um cirurgião buco-maxilo-facial. Naquele momento, os pacientes foram esclarecidos sobre o projeto de pesquisa e sobre a destinação que seria dada a seus dentes. Foi garantido aos participantes o acesso aos resultados da pesquisa.

Como critérios de exclusão foram adotados dentes com trincas ou fraturas coronárias, presença de lesões de cárie incipientes ou cavitadas e presença de restaurações diretas ou indiretas.

Nos indivíduos doadores que apresentaram qualquer necessidade de procedimentos odontológicos de atenção básica, os tratamentos foram realizados pela pesquisadora responsável. Os indivíduos chamados ao exame clínico que não preenchiam os critérios de inclusão, mas que apresentavam necessidade de tratamento cirúrgico, restaurador ou preventivo, também foram devidamente assistidos

4.1.1 Grupos testes (Grupo AI e DGI)

Grupo AI: Para compor o grupo de Amelogênese Imperfeita foram utilizados 5 dentes que possuíam opacidades difusas localizadas e defeitos hipoplásicos em toda a porção coronária com hipótese diagnóstica de Amelogênese do tipo Hipoplásica e Hipomineralizada. Ao exame radiográfico, nenhum dos dentes selecionados apresentou alteração nos condutos radiculares ou câmara pulpar. As pacientes que cederam seus dentes para compor os grupos eram irmãs, porém apresentavam características clínicas (fenótipos) diferentes. Uma das pacientes do grupo AI apresentava hipomineralização generalizada enquanto a outra apresentava hipoplasia, além de hipomineralização generalizada. Uma das pacientes cedeu 3 dentes para o estudo enquanto a outra forneceu 2 dentes para o estudo.

Grupo DGI: O grupo de Dentinogênese Imperfeita foi composto por 6 dentes com alterações na coloração da coroa, principalmente na região cervical, que se apresentava levemente acinzentada. Por meio do exame radiográfico, pôde-se observar leve atresia nas câmaras pulpares e condutos radiculares com obliteração parcial ou total. As pacientes do grupo DGI foram caracterizadas clinicamente em estudo prévio onde foram descritas suas características clínicas, radiográficas e sob microscopia ótica (80). Foram utilizados 3 dentes de cada uma das pacientes, que, no momento deste estudo, apresentavam os terceiros molares inclusos e com indicação de exodontia.

Grupo Controle: Composto por 6 dentes de diferentes pacientes não portadores de nenhuma das condições e não afetados por defeitos de desenvolvimento dentário, sem função oclusal.

4.2 PREPARO DA AMOSTRA

4.2.1 Obtenção da amostra

Imediatamente após exodontia, os dentes foram acondicionados em frascos individuais preenchidos com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% com timol a 0,1%, com o intuito de inibir o crescimento bacteriano (84,85). O período máximo de armazenamento foi de 3 meses.

4.2.2 Obtenção dos espécimes

Foi confeccionada uma peça de latão com dois braços em angulação de 90° e com orifício circular na área central para auxiliar no momento do corte dos espécimes (Figura 1).



Figura 1: Desenho esquemático da peça de latão confeccionada para auxiliar no corte dos espécimes.

A porção radicular do dente foi fixada dentro do orifício por meio de godiva em bastão (Godiva Exata, DFL, Brasil) de modo que a coroa dentária ficasse exposta. A peça foi montada na mesa auxiliar da máquina de cortes (Secotom-15/-50, Struers, Dinamarca) pertencente ao laboratório de materiais do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade de Brasília (Figura 2).



Figura 2: Máquina de cortes dos espécimes (Secotom -15/-50, Struers, Dinamarca).

Foram realizados cortes em fatias no sentido vestibulo-lingual, de forma que fosse atravessada toda a espessura do dente, com início na face mesial. A cada corte, a base de sustentação era movida 1,5 mm lateralmente para o corte seguinte e, assim sucessivamente, até o limite distal do dente. Este valor foi calculado uma vez que o objetivo era a obtenção de fatias de aproximadamente 1,0 mm, sendo que o disco possuía a espessura de aproximadamente 0,5 mm. O disco utilizado foi o diamantado de dupla face e alta concentração e a irrigação foi feita pela própria máquina com água destilada. Selecionou-se a segunda fatia mesial de cada dente, pois apresentava boa quantidade de esmalte e dentina para os testes. Essas fatias foram imediatamente armazenada em frascos individuais com água destilada, para posterior realização de avaliação de microdureza seguida por microscopia eletrônica de varredura.

4.2.3 Preparo dos espécimes para os ensaios de microdureza

As fatias dentárias a serem utilizadas nos ensaios de microdureza e, posteriormente, na análise de microscopia de varredura foram incluídas em blocos de resina acrílica ativada quimicamente incolor (Dencrilay Speed, Dencril, Brasil). Para isto, matrizes de PVC vaselinadas e com paralelismo entre as duas extremidades foram utilizadas para que a resina acrílica fosse inserida sobre a fatia dentária. Após a polimerização química da resina acrílica, a fatia dentária incluída foi removida da matriz e o polimento realizado com lixas metalográficas com granulação decrescente de 400, 600, 800, 1200 (Norton, Brasil) e 2000 (3M ESPE, Brasil) e finalizado com disco de feltro com pasta diamantada Enamelize[®] com 0,3 μ m (Cosmedent, Chicago, EUA). O polimento foi realizado para que irregularidades teciduais, pequenos riscos ou ranhuras não interferissem na superfície a ser analisada (63).

4.3 ENSAIOS DE MICRODUREZA

Os espécimes foram posicionados sobre a plataforma móvel do durômetro de bancada (Digital Microhardness Tester, Pantec, Brasil) e foram realizadas, no esmalte e na dentina, endentações com a ponta Vickers, seguindo a orientação

desde a cúspide vestibular até a polpa dentária (Figura 3). A carga de 50g foi aplicada por 10 segundos, com espaçamento de 300 μ m entre as endentações em esmalte e 500 μ m em dentina. A endentação inicial e a final em esmalte foram realizadas, respectivamente, com distância de 100 μ m para o limite externo do esmalte e da JAD. A endentação inicial e a final em dentina foram realizadas, respectivamente, com distância de 100 μ m para a JAD e câmara pulpar.

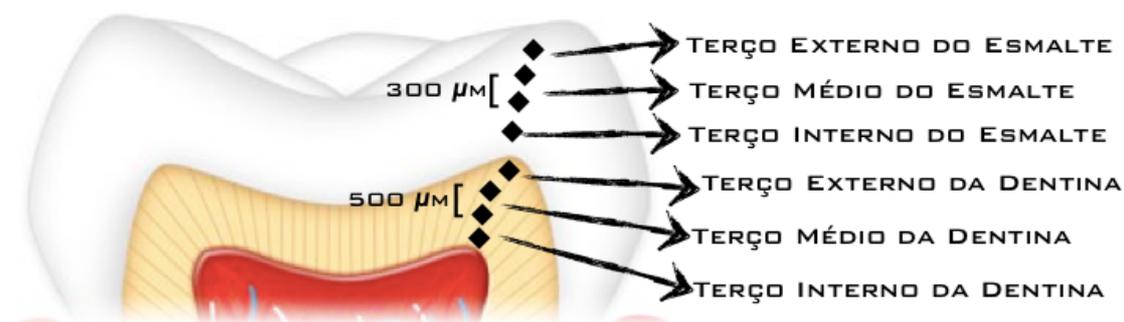


Figura 3: Orientação das endentações realizadas no sentido cúspide vestibular – polpa dentária.

Em cada endentação eram medidas as diagonais (Figura 4) por meio de um software (Scope Photo 2.0.4) e o valor da dureza correspondente a cada uma era, então, registrado em VHN pelo durômetro.

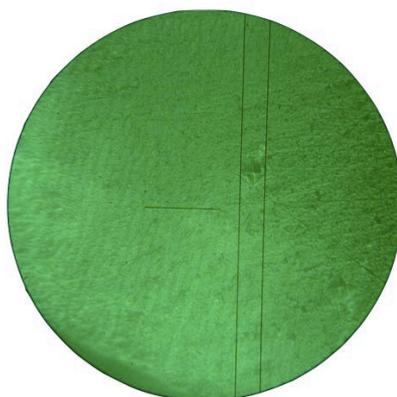


Figura 4: Endentação com medidas nas diagonais realizadas pelo software Scope Photo 2.0.4.

A separação dos valores em terços no esmalte e na dentina foi feita dividindo-se por três o número de endentações obtido. Nos casos em que o número de endentações era múltiplo de três, os valores foram distribuídos de maneira igualitária entre as regiões. Não sendo o número múltiplo de três, foi feita uma separação dos valores, de maneira a manter igual o número de endentações realizadas nos terços externo e interno, sendo o restante (maior número de endentações) alocado na faixa de esmalte ou dentina considerada como terço médio.

Os dentes afetados por Dentinogênese Imperfeita apresentaram uma alteração da coloração dentinária, com aspecto mais translúcente e levemente acastanhado mais acentuado na região cervical da coroa. Sendo assim, essa região foi avaliada também quanto à sua dureza no sentido JAD-câmara pulpar (Figura 5). Os dentes não afetados também foram avaliados na mesma região e sentido para efeito de comparação.

Foram confeccionadas, então, 6 fatias provenientes do grupo controle (que resultaram 12 endentações no terço externo do esmalte, 21 no terço médio e 12 no terço interno e na dentina respectivamente 18, 25 e 17 endentações).

No grupo AI usou-se 5 fatias (16, 16 e 15 endentações em esmalte e 14, 19 e 14 endentações em dentina), sendo três de uma mesma paciente e duas de outra.

No grupo DGI foram usadas 6 fatias (12, 18 e 12 endentações esmalte e 12, 18 e 12 endentações em dentina) sendo três de uma mesma paciente e três de outra.

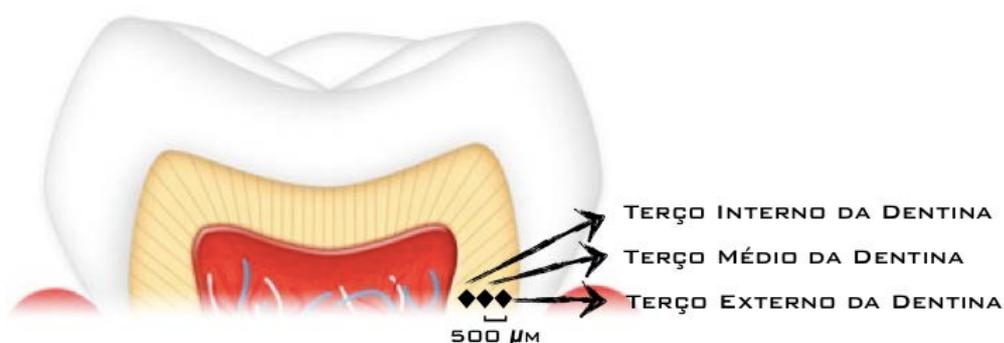


Figura 5: Orientação das endentações realizadas no sentido JAD – câmara pulpar.

4.3.1 Análise estatística

As variáveis microdureza em esmalte e em dentina foram avaliadas quanto ao padrão de distribuição de freqüências por meio do teste de normalidade de Lilliefors. Além disso, quando tais variáveis foram avaliadas entre os dentes considerados hígidos (controle), com amelogênese imperfeita (AI) e com dentinogênese imperfeita (DGI), utilizou-se o teste de Bartlett para análise da homogeneidade das variâncias. Uma vez que tais dados encontravam-se em normalidade e em homogeneidade, as comparações intragrupo e intergrupo foram realizadas por meio de testes paramétricos. Foram realizadas as seguintes análises por meio da com os respectivos testes de hipótese:

- 1) Avaliação da Microdureza em esmalte entre dentes e entre os grupos: Intragrupo: ANOVA com fator duplo; Intergrupo: ANOVA fator único. Após ambos os testes, foi realizado o teste de acompanhamento de Fisher (*Least Square Difference – LSD*);
- 2) Avaliação da Microdureza em esmalte entre os terços dos dentes dos grupos: Intragrupo e Intergrupo: ANOVA com fator duplo. Após este teste, foi realizado o teste de acompanhamento de Fisher (*Least Square Difference – LSD*);
- 3) Avaliação da Microdureza em dentina entre os dentes e entre os grupos: Intragrupo: ANOVA com fator duplo; Intergrupo: ANOVA fator único. Após ambos os testes, foi realizado o teste de acompanhamento de Fisher (*Least Square Difference – LSD*);
- 4) Avaliação da microdureza em dentina entre os terços dos dentes dos grupos: Intragrupo e Intergrupo: ANOVA com fator duplo. Após este teste, foi realizado o teste de acompanhamento de Fisher (*Least Square Difference – LSD*);
- 5) Avaliação da microdureza em área afetada da cervical entre grupo controle e grupo com dentinogênese imperfeita: teste t para amostras independentes;
- 6) Avaliação da microdureza em área afetada da cervical por terços: Intragrupo e Intergrupo: ANOVA com fator duplo. Após este teste, foi realizado o teste de acompanhamento de Fisher (*Least Square Difference – LSD*).

Todos os testes utilizaram um nível de significância de 0,05. Os resultados foram expressos em tabelas com estatísticas descritivas e p-valores dos testes

inferenciais, bem como realizada a diagramação por meio de gráficos de colunas ou de linhas, e Box-plot.

4.4 ETAPA HISTOLÓGICA

4.4.1 Preparo dos espécimes para microscopia eletrônica de varredura

Após a análise da microdureza, as amostras foram novamente polidas com lixas metalográficas com granulação decrescente de 400, 600, 1200, 1500 (Norton, Brasil), 2000 (3M ESPE, Brasil), 2400 e 4000 (Buehler, EUA), intercalando-se com banho de 30 segundos em ultrassom (Branson, EUA) com água destilada. Em seguida, foram descalcificadas com ácido fosfórico a 10% em agitação leve por 1 segundo e lavadas em água corrente por 2 minutos. A desidratação foi realizada com banhos de 10 minutos em concentrações crescentes de álcool (70, 80, 90, 95 e 100%) e colocadas em HMDS *overnight*. Em seguida, os espécimes foram encaminhados ao Laboratório de Biologia Celular do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, onde foram levados à secadora ao ponto crítico (CPD 030 - Critical Point Dryer, Balzers, Alemanha) e cobertos com ouro em evaporador (SCD 050 - Sputter Coater Deposition, Balzers, Alemanha). Por fim, foram observados em Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL JSM 7001F, Jeol, Japão), equipamento também pertencente ao Laboratório de Biologia Celular do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília.

4.3.2 Análise histológica

Os corpos de prova foram observados em Microscópio Eletrônico de Varredura e fotografados em regiões de esmalte e dentina, seguindo as mesmas regiões onde foram realizadas as endentações, com aumentos de 500x, 1000x, 1500x, 2500x, 3500x, 5000x e 10000x nos três terços do esmalte e da dentina (interno, médio e externo). Os resultados foram descritos e comparados aos de pacientes não afetados.

5 RESULTADOS

No presente estudo foram avaliados um total de 6 dentes do grupo controle, 5 do grupo AI e 6 do grupo DGI, sendo que o grupo AI era composto por 3 dentes de uma paciente e 2 de outra e o grupo DGI era composto por 3 dentes de uma paciente e 3 de outra. As pacientes que cederam seus dentes para compor ambos os grupos eram irmãs, porém apresentavam características clínicas (fenótipos) diferentes conforme descrito na metodologia deste estudo. Foram realizados ensaios de microdureza e análise de microscopia eletrônica de varredura.

5.1 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM ESMALTE ENTRE DENTES E ENTRE GRUPOS

Em relação à microdureza em esmalte, foi possível verificar que no grupo controle os dentes 1, 2 e 3 foram semelhantes estatisticamente entre si ($322,2 \pm 53,3$; $313,2 \pm 48,8$; $296,6 \pm 21,3$, respectivamente) ($p > 0,05$), porém com algumas médias significativamente maiores do que as dos dentes 4, 5 e 6 ($270,4 \pm 35,7$; $247,5 \pm 73,8$; $279,0 \pm 33,4$, respectivamente) ($p < 0,05$), sendo estes últimos semelhantes entre si ($p > 0,05$) (Tabela 1 e Figura 6).

Entre os dentes com AI, apenas o dente 1 apresentou média significativamente mais baixa ($246,5 \pm 26,6$) do que o dente 3 ($298,2 \pm 43,2$) ($p < 0,05$), sendo que os demais foram estatisticamente equivalentes entre si ($p > 0,05$) (Tabela 1 e Figura 6).

Entre os dentes com DGI, apenas o dente 1 apresentou média significativamente mais elevada ($325,9 \pm 47,0$) do que o dente 4 ($281,8 \pm 50,8$) ($p < 0,05$), sendo que os demais foram estatisticamente equivalentes ($p > 0,05$) (Tabela 1 e Figura 6).

Tabela 1 – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em esmalte dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intragrupo*.

Grupos	Dentes	n	Média	Desvio Padrão	IC - 95%	IC +95%	p
CONTROLE	D1	8	322,2 ^{d,e,f}	53,3	277,7	366,8	
	D2	7	313,2 ^{d,e}	48,8	268,0	358,3	
	D3	8	296,6 ^e	21,3	278,8	314,4	< 0,05
	D4	8	270,4 ^{a,b}	35,7	240,5	300,2	
	D5	7	247,5 ^{a,b,c}	73,8	179,3	315,7	
	D6	7	279,0 ^a	33,4	248,1	309,9	
AI	D1	10	246,5 ^c	26,6	227,5	265,6	
	D2	9	274,0	32,2	249,3	298,8	
	D3	9	298,2 ^a	43,2	265,1	331,4	< 0,05
	D4	11	263,6	37,8	238,2	289,0	
	D5	8	274,1	39,1	241,4	306,7	
DGI	D1	7	325,9 ^d	47,0	282,4	369,3	
	D2	7	304,5	35,5	271,7	337,3	
	D3	7	311,3	37,7	276,4	346,1	
	D4	7	281,8 ^a	50,8	234,8	328,8	< 0,05
	D5	7	319,8	36,6	285,9	353,7	
	D6	7	299,1	37,9	264,1	334,2	

* n= número de endentações.

** As comparações são realizadas intragrupo, ou seja, apenas entre os dentes de cada uma dos grupos em análise (Controle, AI e DGI). $F_{(9,117)}=2,26$, p-valor=0,02.

^a ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 1

^b ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 2

^c ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 3

^d ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 4

^e ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 5

^f ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 6

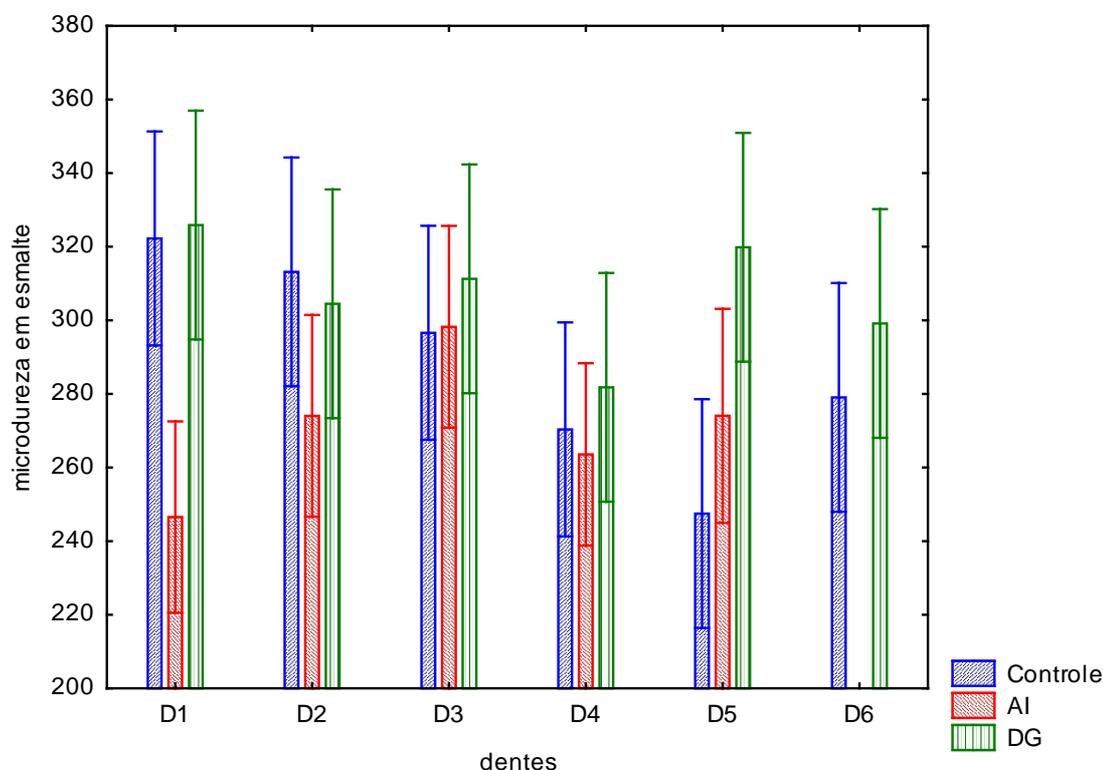


Figura 6 – Comparação intragrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em esmalte dos espécimes dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.

Ainda sobre a microdureza em esmalte, foi possível verificar que houve diferenças estatísticas significativas entre os grupos ($p < 0,05$). Verificou-se que os dentes do grupo controle e os dentes do grupo com DGI apresentaram médias estatisticamente equivalentes ($288,7 \pm 51,0$; $307,1 \pm 41,4$, respectivamente) ($p > 0,05$), porém, significativamente mais elevadas do que a observada no grupo de dentes com AI ($270,4 \pm 38,4$) ($p < 0,05$) (Tabela 2 e Figura 7).

Tabela 2 – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em esmalte dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intergrupo*.

Grupos	n	Média	Desvio Padrão	IC -95%	IC +95%	p
CONTROLE	45	288,7 ^b	51,0	273,4	304,0	
AI	47	270,4 ^{a, c}	38,4	259,1	281,7	< 0,05
DGI	42	307,1 ^b	41,4	294,2	320,0	

* n= número de endentações.

** As comparações são realizadas intergrupo, ou seja, entre os grupos em análise (Controle, AI e DGI). $F_{(2,131)}=16,34$, $p\text{-valor}=0,00$.

^a ANOVA - LSD; $p<0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os dentes do Grupo Controle

^b ANOVA - LSD; $p<0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os dentes do Grupo AI

^c ANOVA - LSD; $p<0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os dentes do Grupo DGI

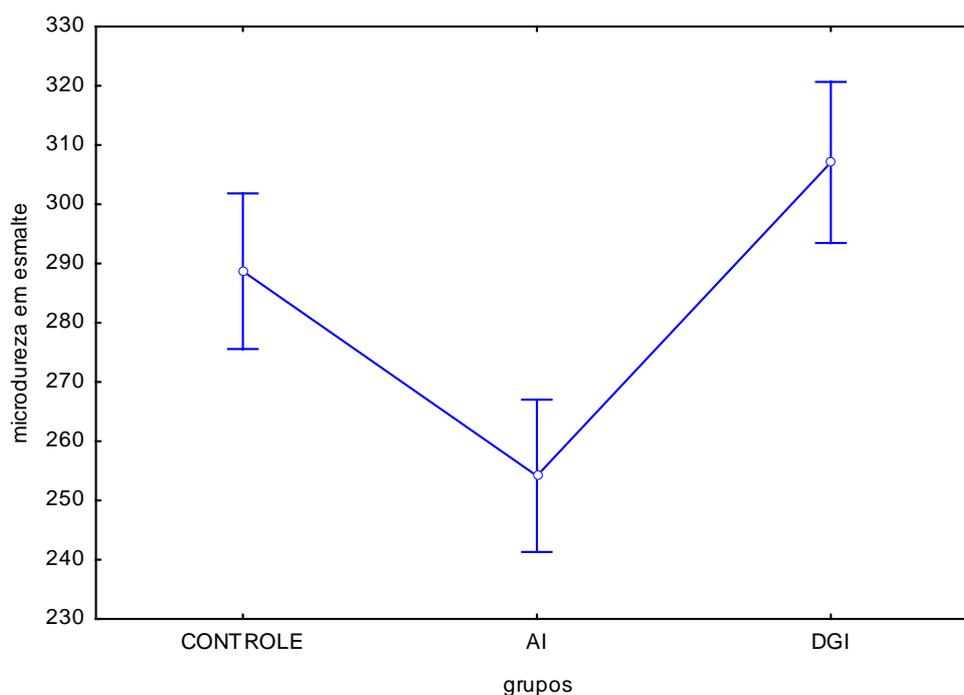


Figura 7 – Comparação intergrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em esmalte dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.

5.2 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM ESMALTE ENTRE TERÇOS DOS DENTES DOS GRUPOS

Ao avaliar a microdureza do esmalte dos terços dos dentes dos diferentes grupos analisados, foi possível verificar que os dentes do grupo controle e com DGI apresentaram comportamentos médios equivalentes em todos os terços avaliados (externo, médio e interno) ($p > 0,05$), sendo que em ambos os grupos houve redução significativa das médias de microdureza do esmalte no sentido externo-interno ($p < 0,05$) (Tabela 3 e Figura 8).

Nos dentes com AI, a média do terço externo é significativamente mais baixa ($289,9 \pm 49,1$) do que a dos demais grupos na mesma porção (controle = $324,2 \pm 55,8$; DGI = $340,2 \pm 35,8$). Dessa forma, no grupo com AI a redução dos valores no sentido externo-interno é mais tênue, não havendo diferenças estatísticas significativas entre os terços externo e médio ($p > 0,05$) (Tabela 3 e Figura 8).

Tabela 3 – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em esmalte nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intragrupo*.

Grupos	Terços	N	Média	Desvio Padrão	IC -95%	IC +95%	p
Controle	externo	12	324,2 ^{b,c}	55,8	288,7	359,7	< 0,05
	médio	21	291,0 ^{a,c}	35,1	275,0	307,0	
	interno	12	249,2 ^{a,b}	44,4	221,0	277,4	
AI	externo	14	289,9 ^c	49,1	261,6	318,2	< 0,05
	médio	21	268,9	31,8	254,4	283,4	
	interno	14	254,7 ^a	27,6	238,8	270,6	
DGI	externo	12	340,2 ^{b,c}	35,8	317,5	362,9	< 0,05
	médio	18	308,9 ^{a,c}	34,4	291,8	326,0	
	interno	12	271,2 ^{a,b}	25,8	254,8	287,6	

* n= número de endentações.

** As comparações são realizadas intragrupo, ou seja, apenas entre os dentes de cada uma dos grupos em análise (Controle, AI e DGI). $F_{(4,127)}=1,12$, $p\text{-valor}=0,35$.

^a ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes locados no terço externo

^b ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes locados no terço médio

^c ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes locados no terço interno

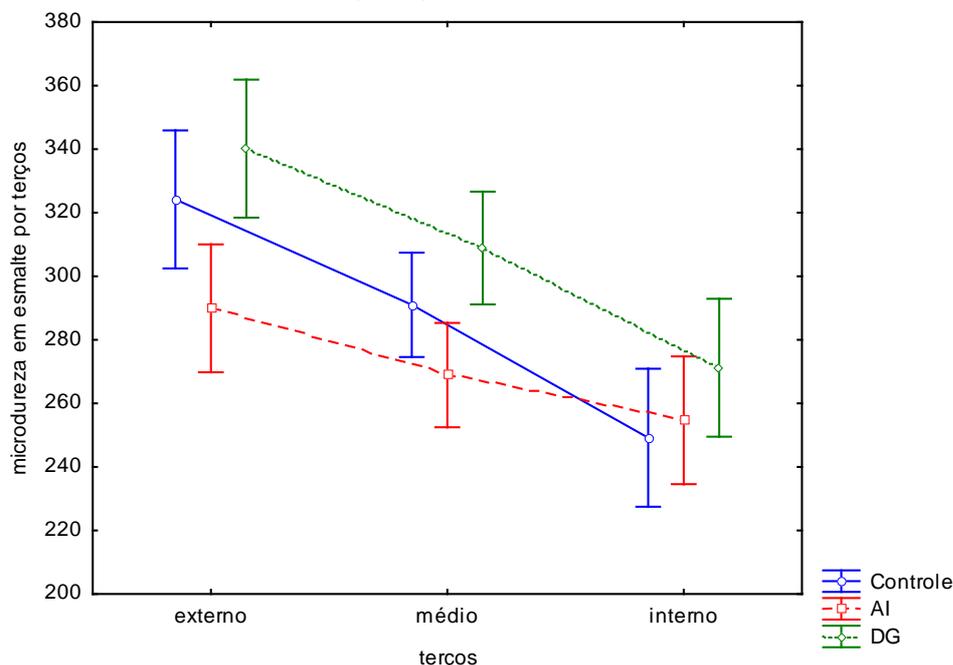


Figura 8 – Comparação intragrupo e intergrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em esmalte dos espécimes localizados nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.

5.3 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM DENTINA ENTRE OS DENTES ENTRE OS GRUPOS

Em relação à microdureza em dentina, foi possível verificar que no grupo de dentes controle os dentes 5 e 6 foram semelhantes estatisticamente entre si ($53,6 \pm 5,1$; $50,3 \pm 3,8$, respectivamente) ($p > 0,05$), porém com médias significativamente maiores do que os dentes 1, 2 e 3 ($43,1 \pm 6,0$; $43,8 \pm 5,6$; $42,8 \pm 10,0$, respectivamente) ($p < 0,05$). O dente 4 apresentou média equivalente aos demais dentes ($46,6 \pm 9,7$) ($p > 0,05$) (Tabela 4 e Figura 9).

Entre os dentes com AI, apenas o dente 6 apresentou média significativamente mais elevada do que os demais ($52,2 \pm 5,1$) ($p < 0,05$) (Tabela 4 e Figura 9).

Entre os dentes com DGI, todos apresentaram médias estatisticamente equivalentes ($p > 0,05$) (Tabela 4 e Figura 9).

Tabela 4 – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em dentina dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intragrupo*.

Grupos	Dentes	n	Média	Desvio Padrão	IC -95%	IC +95%	p
CONTROL E	D1	11	43,1 ^{e,f}	6,0	39,0	47,2	< 0,05
	D2	9	43,8 ^e	5,6	39,5	48,1	
	D3	8	42,8 ^{e,f}	10,0	34,4	51,2	
	D4	10	46,6	9,7	39,7	53,5	
	D5	10	53,6 ^{a,b,c}	5,1	50,0	57,2	
	D6	12	50,3 ^{a,c}	3,8	47,9	52,7	
AI	D1	10	38,7 ^e	8,1	32,9	44,6	< 0,05
	D2	8	39,6 ^e	14,0	27,9	51,3	
	D3	9	41,0 ^e	5,6	36,6	45,3	
	D4	10	40,1 ^e	10,6	32,5	47,7	
	D5	10	52,2 ^{a,b,c,d}	5,1	48,6	55,9	
DGI	D1	8	33,1	5,7	28,4	37,9	> 0,05
	D2	7	33,5	10,0	24,3	42,8	
	D3	6	28,5	8,3	19,7	37,2	
	D4	8	33,4	9,1	25,8	41,1	
	D5	7	35,2	8,4	27,5	43,0	
	D6	6	32,3	6,6	25,4	39,3	

* n= número de endentações.

** As comparações são realizadas intragrupo, ou seja, apenas entre os dentes de cada uma dos grupos em análise (Controle, AI e DGI). $F_{(9,132)}=0,91$, p-valor=0,52.

^a ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 1

^b ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 2

^c ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 3

^d ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 4

^e ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 5

^f ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes do Dente 6

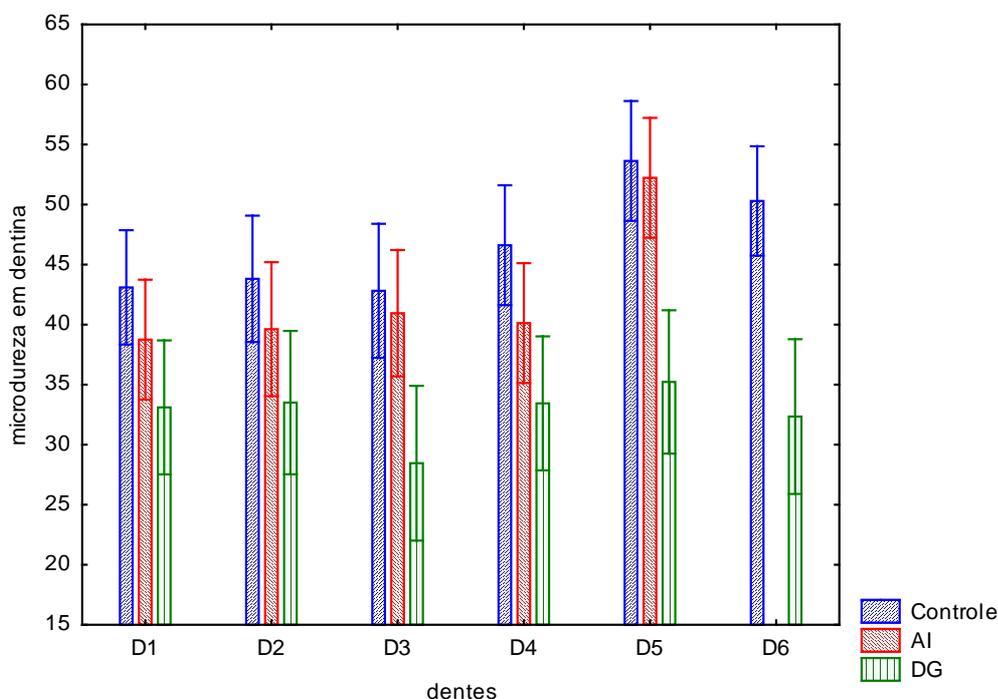


Figura 9 – Comparação intragrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em dentina dos espécimes dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.

Ainda sobre a microdureza em dentina, foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os grupos ($p < 0,05$). Verificou-se que os dentes do grupo controle apresentaram média significativamente mais elevada ($46,9 \pm 7,7$) do que os demais grupos ($p < 0,05$). Além disso, a média dos dentes do grupo com AI foi significativamente maior ($42,48 \pm 10,09$) do que os dentes do grupo com DGI ($32,8 \pm 7,9$) ($p < 0,05$) (Tabela 5 e Figura 10).

Tabela 5 – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em dentina dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intergrupo*.

Grupos	n	Média	Desvio Padrão	IC -95%	IC +95%	p
--------	---	-------	---------------	---------	---------	---

CONTROLE	60	46,9 ^{b,c}	7,7	45,0	48,9	
AI	47	42,5 ^{a,c}	10,1	39,5	45,4	< 0,05
DGI	42	32,8 ^{a,b}	7,9	30,4	35,3	

* n = número de endentações.

** As comparações são realizadas intergrupo, ou seja, entre os grupos em análise (Controle, AI e DGI). $F_{(2,146)}=33,83$, p -valor=0,00.

^a ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os dentes do Grupo Controle

^b ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os dentes do Grupo AI

^c ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os dentes do Grupo DGI

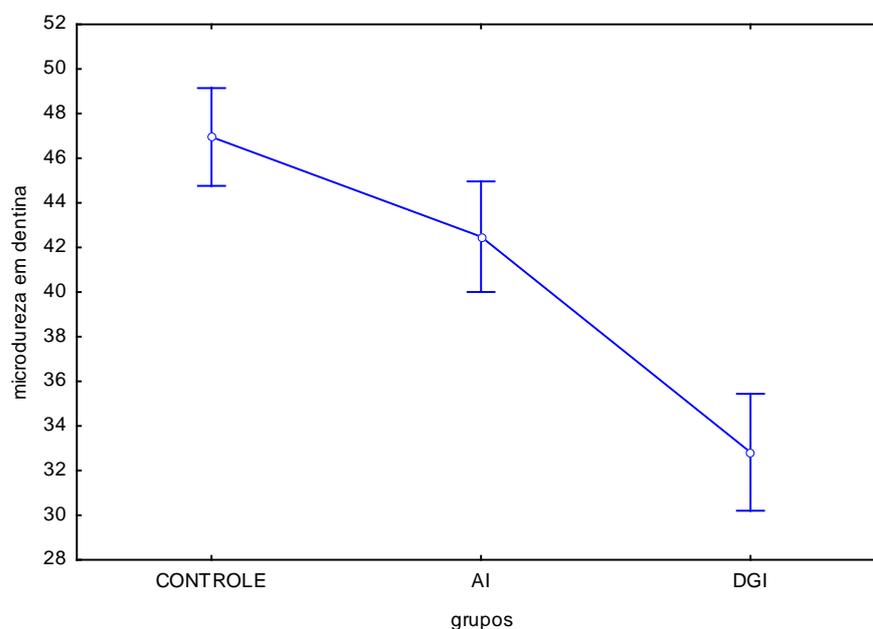


Figura 10 – Comparação intergrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em dentina dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.

5.4 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM DENTINA ENTRE TERÇOS DOS DENTES DOS GRUPOS

Ao avaliar a microdureza da dentina dos terços dos dentes, foi possível verificar que, em todos os grupos os terços externo e médio foram considerados estatisticamente equivalentes entre si ($p > 0,05$), contudo, ambos os grupos com

diferenças significativas em relação ao terço interno ($p < 0,05$) (Tabela 6 e Figura 11).

Ao realizar a comparação entre os grupos, verificou-se que os dentes com DGI apresentaram médias significativamente mais baixas em todos os terços quando comparados aos dentes dos demais grupos ($p < 0,05$). Já os dentes com AI, apresentaram semelhança estatística com os dentes do grupo controle, na comparação do terço externo ($p > 0,05$); contudo, apresentaram diferenças estatísticas nos terços médio e interno ($p < 0,05$) (Figura 11).

Tabela 6 – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em esmalte nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle, AI e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intragrupo*.

Grupos	Terços	n	Média	Desvio Padrão	IC -95%	IC +95%	p
Controle	externo	18	48,2 ^c	4,5	45,9	50,4	< 0,05
	médio	25	50,6 ^c	5,1	48,4	52,7	
	interno	17	40,4 ^{a,b}	9,6	35,4	45,3	
AI	externo	14	46,6 ^c	4,9	43,8	49,5	< 0,05
	médio	19	46,0 ^c	6,2	43,0	49,0	
	interno	14	33,5 ^{a,b}	12,6	26,2	40,8	
DGI	externo	12	39,8 ^c	3,7	37,5	42,2	< 0,05
	médio	18	34,9 ^c	3,3	33,3	36,6	
	interno	12	22,6 ^{a,b}	5,3	19,2	26,0	

* n= número de endentações.

** As comparações são realizadas intragrupo, ou seja, apenas entre os dentes de cada um dos grupos em análise (Controle, AI e DGI). $F_{(4,140)}=2,10$, p -valor=0,084.

^a ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes locados no terço externo

^b ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes locados no terço médio

^c ANOVA - LSD; $p < 0,05$ = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes locados no terço interno

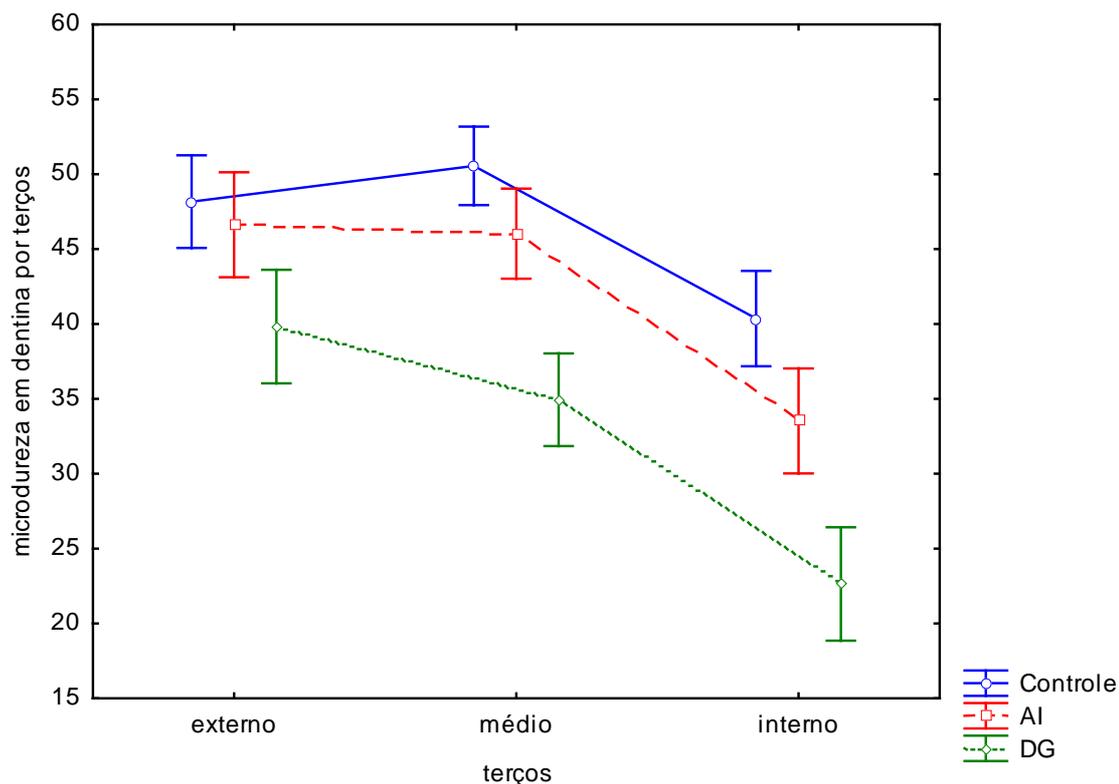


Figura 11 – Comparação intragrupo e intergrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em dentina dos espécimes localizados nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle, AI e DGI.

5.5 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM DENTINA EM ÁREA CERVICAL

Nesta avaliação foi realizada a comparação apenas entre as médias dos grupos de dentes controle e com DGI. Foi possível verificar que houve diferenças estatísticas significativas entre os dois grupos ($t=9,6$; $p<0,05$), sendo que a média de microdureza do grupo com DGI é significativamente mais baixa ($18,4 \pm 7,3$) do que a média do grupo controle ($45,0 \pm 14,0$) (Figura 12).

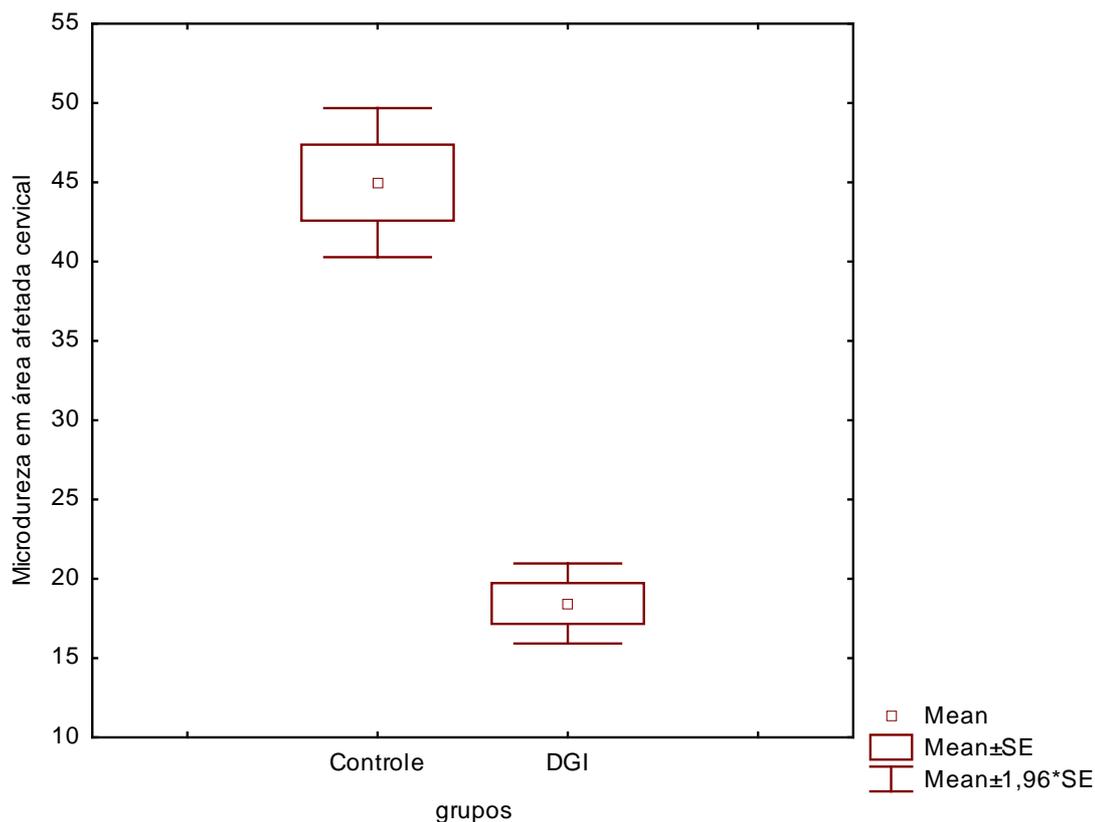


Figura 12 – Comparação intergrupo das médias, erros padrão (SE) e intervalos de confiança (média \pm 1,96*SE) de microdureza em área afetada da cervical dos espécimes dos dentes dos grupos controle e DGI.

5.6 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM DENTINA EM ÁREA CERVICAL POR TERÇOS

Ao realizar esta avaliação, foi possível verificar que houve diferenças estatísticas significativas entre as médias comparadas ($p < 0,05$). Entre os dentes do grupo controle, verificou-se que houve redução significativa das médias de microdureza no sentido dos terços externo-interno ($p < 0,05$). Já no grupo de dentes com DGI, não houve diferenças entre as médias dos três terços avaliados ($p > 0,05$) (Tabela 7 e Figura 13).

Tabela 7 – Estatísticas descritivas (n, média e desvio padrão) e intervalos de confiança de microdureza em área afetada da cervical nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle e DGI. P-valor do teste de Análise da Variância (ANOVA) em avaliação intragrupo*.

Grupos	Terços	n	Média	Desvio Padrão	IC -95%	IC +95%	p
Controle	externo	10	52,0 ^{b,c}	11,5	43,8	60,3	< 0,05
	médio	22	42,4 ^{a,c}	14,7	35,9	48,9	
	interno	10	30,4 ^{a,b}	12,0	21,8	39,0	
DGI	externo	12	17,6	7,1	13,1	22,2	> 0,05
	médio	8	17,7	5,3	13,3	22,2	
	interno	12	19,7	8,8	14,1	25,3	

* n= número de endentações.

** As comparações são realizadas intragrupo, ou seja, apenas entre os dentes de cada um dos grupos em análise (Controle, AI e DGI). $F_{(2,68)}=6,09$, p-valor=0,00.

^a ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes locados no terço externo

^b ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes locados no terço médio

^c ANOVA - LSD; p<0,05 = diferença entre as médias estatisticamente significativas com os espécimes locados no terço interno

Quando os terços foram comparados entre os grupos, foi possível perceber que as médias observadas dos dentes do grupo controle foram significativamente maiores do que as médias dos dentes do grupo com DGI em todos os terços (p<0,05) (Figura 13).

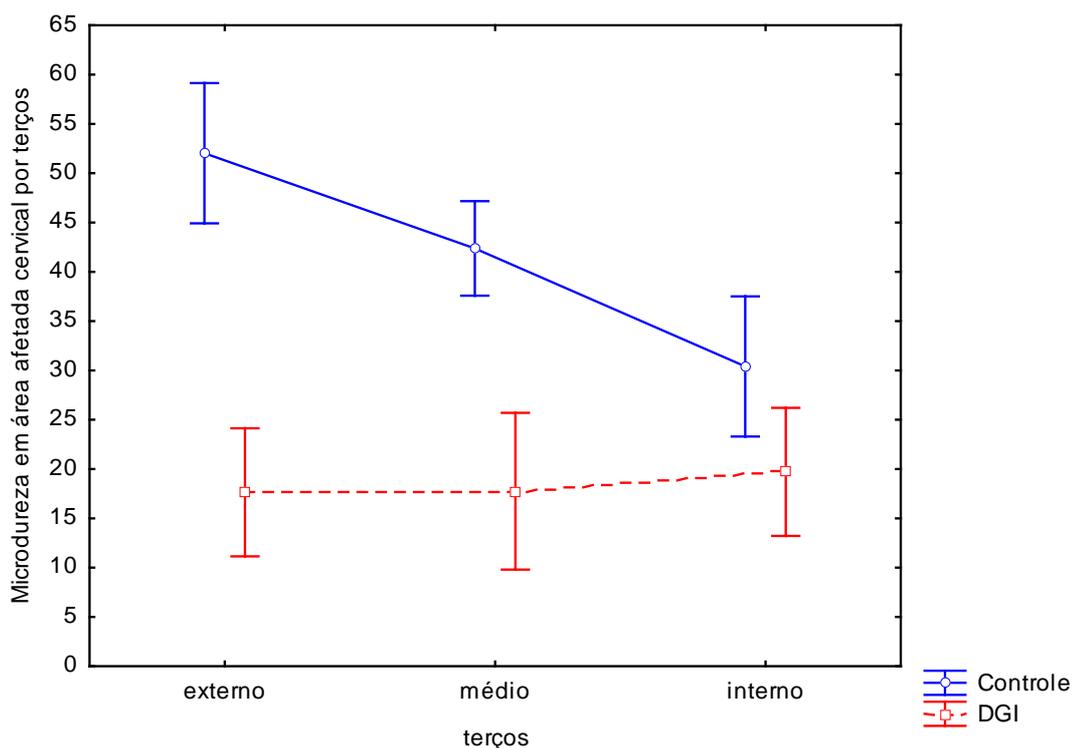


Figura 13 – Comparação intragrupo e intergrupo das médias e intervalos de confiança de microdureza em área afetada da cervical em espécimes localizados nos terços externo, médio e interno dos dentes dos grupos controle e DGI.

5.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA EM ESMALTE

Em cortes transversais dos dentes do grupo controle, observou-se, no esmalte, estrutura prismática e interprismática com cristais organizados, bem delimitados e definidos apresentando tamanhos semelhantes (Figuras 1A – 3A).

No grupo de amostra de dentes afetados por Amelogênese Imperfeita, foram observadas alterações em toda a extensão do esmalte examinado. Todos os espécimes apresentaram alterações sugestivas de retenção de material orgânico. A maioria dos espécimes observados apresentou as estruturas prismática e interprismática do esmalte preservadas (Figura 1B e 2B). No entanto, em um dos espécimes não foi possível defini-las claramente (Figura 3B). Quando analisados em maior aumento, foi possível verificar alterações a nível cristalino, tais como material globular associado, ausência de paralelismo dos cristais do esmalte prismático e variações do tamanho cristalino (Figura 2B). Além disso, no esmalte

prismático e interprismático houve regiões onde não foi possível identificar os cristais devido à presença de material amorfo com aparência de malha ou rede (Figuras 4B - 6B).

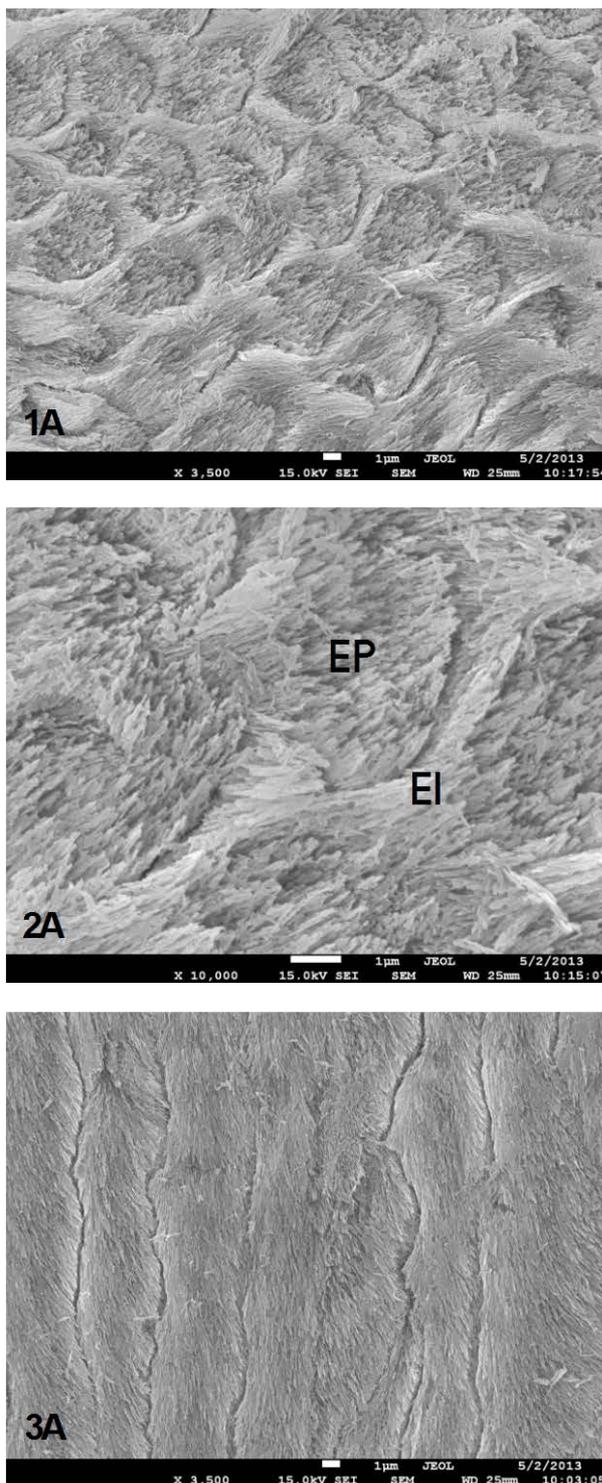
O grupo afetado por Dentinogênese Imperfeita apresentou a ultraestrutura do esmalte aparentemente normal.

5.8 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA EM DENTINA

Os dentes do grupo controle apresentam estrutura dentinária com número, tamanho e orientação tubular aparentemente normal (Figura 1C e 2C).

As amostras do grupo afetado por Amelogênese Imperfeita também apresentaram a ultraestrutura da dentina aparentemente normal.

A observação histológica dos dentes com Dentinogênese Imperfeita do tipo II permitiu confirmar o diagnóstico, uma vez que na maioria dos espécimes houve alterações na estrutura tubular dentinária. Entretanto, nem todos os dentes apresentaram as mesmas alterações, sendo que em três espécimes a distribuição tubular não foi uniforme, apresentando regiões atubulares. (Figuras 3C e 4C). Ao observar a região cervical desses espécimes, identificou-se que aparentemente há maior extensão das regiões atubulares (Figura 5C e 6C). Nos outros espécimes, o número, tamanho e disposição dos túbulos observados era aparentemente normal.

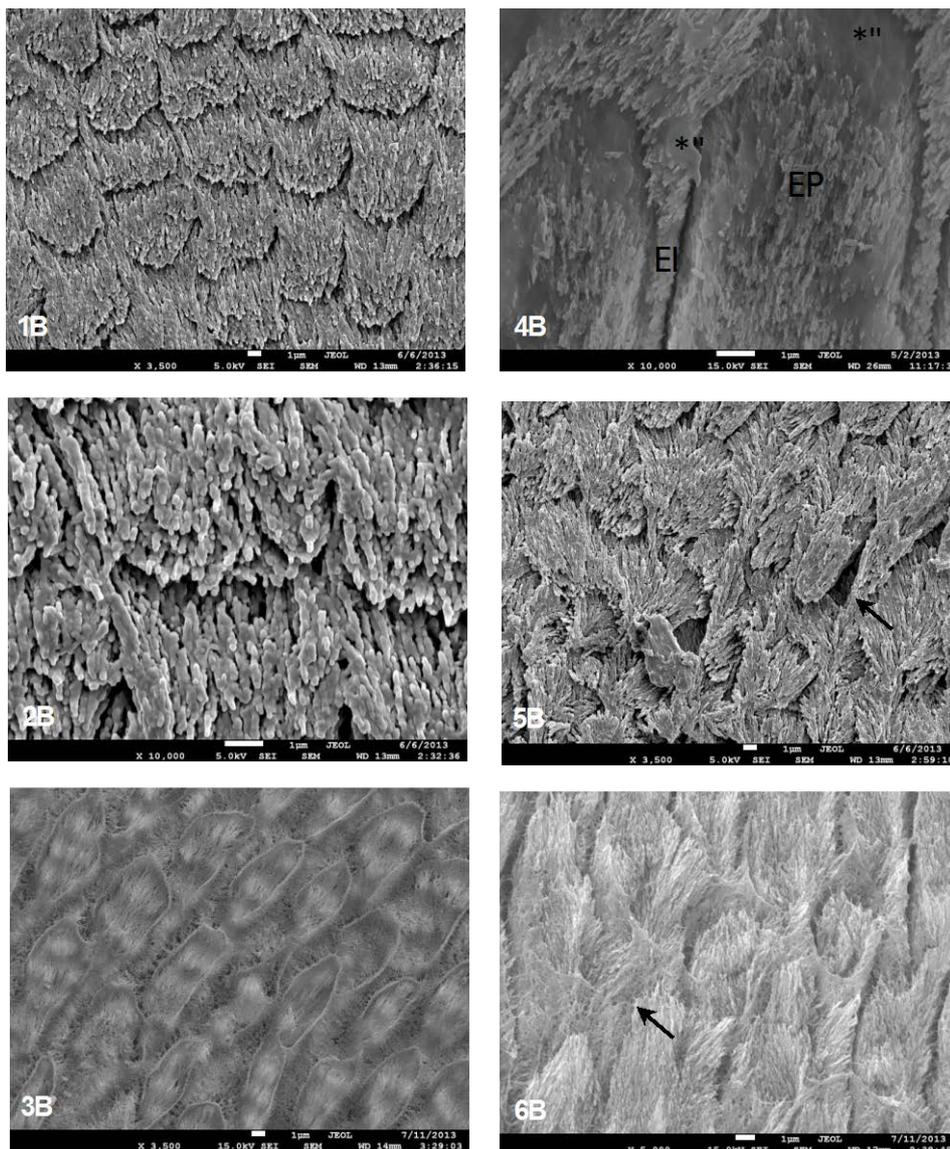


Figuras A – Cortes de esmalte dentário do grupo controle.

Figura 1A – Corte transversal - 3500x . Note estrutura prismática e interprismática com cristais organizados, bem delimitados e definidos apresentando tamanhos semelhantes.

Figura 2A – Detalhes na estrutura -10000x. EP= esmalte prismático / EI= esmalte interprismático.

Figura 3A – Corte longitudinal - 3500x. Note a estrutura de prismas e organização de cristais.



Figuras B – Cortes de esmalte dentário do grupo Amelogênese Imperfeita (AI).

Figura 1B – Corte transversal - 3500x . Note estrutura prismática e interprismática preservada.

Figura 2B – Detalhes na estrutura - 10000x. Note alterações a nível cristalino como material globular associado, ausência de paralelismo e variações morfológicas.

Figura 3B – Corte transversal - 3500x . Note que não é possível definir claramente estrutura prismática e interprismática.

Figura 4B – Corte longitudinal - 10000x. * = região onde não foi possível identificar os cristais devido a presença de material amorfo . EP= esmalte prismático / EI= esmalte interprismático.

Figura 5B – Corte transversal - 3500x. Seta = região onde não foi possível identificar os cristais.

Figura 6B – Corte transversal - 5000x. Seta = região onde não foi possível identificar os cristais com presença de material amorfo com aparência de malha ou rede .

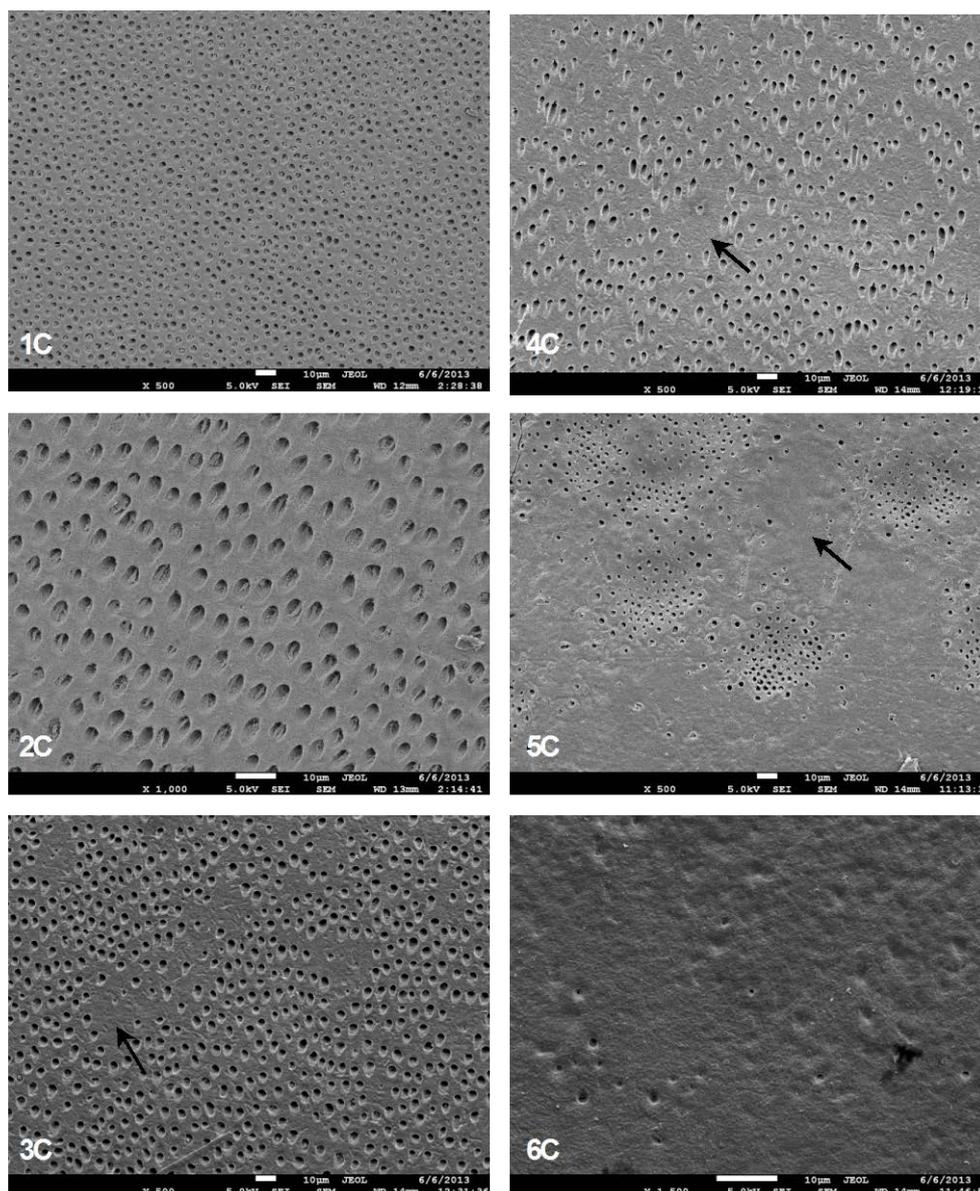


Figura 1C – Corte transversal de dentina (grupo controle) - 500x . Note estrutura dentinária com número, tamanho e orientação tubular aparentemente normal.

Figura 2C– Corte oblíquo de dentina (grupo controle) - 1000x. Detalhes na estrutura dentinária aparentemente normal podem ser observados.

Figura 3C – Corte transversal de dentina (grupo DGI) - 500x . Note que a distribuição tubular não foi uniforme, apresentando regiões atubulares. Seta= região atubular.

Figura 4C – Corte transversal de dentina de dente do grupo DGI em aumento de 500x . Note que a presença de regiões atubulares. Seta= região atubular.

Figura 5C – Corte transversal de dentina de região cervical (grupo DGI) - 500x. Note que há maior extensão das regiões atubulares. Seta = região atubular.

Figura 6C – Corte transversal de dentina de região cervical (grupo DGI) - 1500x. Note que há ainda maior extensão das regiões atubulares e presença de poucos túbulos dentinários.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, ao analisar a microdureza Vickers em esmalte de dentes do grupo controle, foram obtidos resultados semelhantes aos encontrados na literatura (86,87). O fato de os dentes 1, 2 e 3 serem de uma mesma pessoa e os dentes 4, 5 e 6 de outra pode justificar a equivalência estatística de valores de dureza entre os espécimes de um mesmo indivíduo. Além disso, os dentes da primeira paciente apresentaram valores significativamente maiores do que os da segunda, o que poderia ser justificado pela diferença de mineralização, que varia de indivíduo para indivíduo.

Os dentes afetados por DGI-II apresentaram valores de dureza no esmalte semelhantes aos encontrados nos controles. Não há estudos que relatem sobre as alterações estruturais ou de composição mineral nesse tecido. No entanto, neste trabalho não foram encontradas alterações estruturais no esmalte de dentes do grupo DGI.

Nos espécimes do grupo AI foram observados resultados significativamente inferiores quando comparados aos controles e aos DGI-II, o que comprovou a hipótese de que a microdureza no esmalte de dentes do grupo AI é inferior à observada em esmalte de dentes afetados pela condição de Dentinogênese Imperfeita tipo II e de dentes não afetados por nenhuma das condições avaliadas.

Em média, os terços externos do esmalte do grupo controle e do grupo DGI-II apresentaram valores de dureza maior que os terços internos. Uma causa possível para essa diferença de valores de dureza nos terços é o fato dos cristais de hidroxiapatita do terço externo do esmalte serem melhor arranjados e mais densamente compactados do que os cristais do terço interno (30).

No estudo de Park e colaboradores em 2008 foi encontrada uma relação de proximidade da JAD com uma diminuição do conteúdo mineral que pode contribuir para esses valores mais baixos de dureza no esmalte inicial (34). Há uma diminuição da matriz orgânica com a maturação do esmalte. Sendo assim, a dureza e o módulo de elasticidade em região adjacente à JAD seriam menores e na região mais externa, maiores (88,89).

Em estudo anterior foi encontrada, em esmalte hipoplásico, redução nos valores de dureza quando feitas endentações com a ponta Knoop (61). É importante ressaltar que essas endentações do estudo de Suckling e colaboradores em 1989 não foram realizadas em regiões hipomineralizadas especificamente, mas sim seguiram o curso da ponta da cúspide até a JAD, assim como no presente estudo. Foi constatado que o tecido afetado por defeitos qualitativos de esmalte possui microdureza e módulo de Young inferior aos dentes não afetados (11,90). Acredita-se que isso possa ocorrer devido à redução do conteúdo mineral que ocorre nesses tecidos.

As consequências nas propriedades físicas e mecânicas de alterações na composição mineral do esmalte alterado ainda são desconhecidas (11). Mahoney *et al.*, em 2004, verificaram que a dureza em esmalte hipomineralizado/hipoplásico de primeiros molares variou de 7,1 a 177,4 VHN. É importante ressaltar que o conteúdo mineral foi menor nas áreas que se apresentavam histologicamente mais afetadas. Em contrapartida, Faria-e-Silva *et al.*, em 2011, verificaram um valor de dureza Knoop reduzido em esmalte afetado por amelogênese imperfeita do tipo hipocalcificado, aproximadamente 53,3 KHN (62). No estudo de Mahoney *et al.* (2004), não foram verificadas diferenças entre a dureza do esmalte do grupo controle e do esmalte macroscopicamente não afetado dos dentes do grupo teste (11). É importante ressaltar que neste estudo não é especificado se os dentes avaliados são afetados por amelogênese imperfeita nem o grau dos defeitos de esmalte encontrados.

Escassos estudos analisam o conteúdo mineral dos dentes afetados por Amelogênese Imperfeita, dentre eles o estudo supracitado de Mahoney e colaboradores (2004) analisou esse conteúdo em dentes com esmalte hipomineralizado e constatou que era menor, com densidade mineral 10% inferior àquela de dentes não afetados (11). Outro estudo (59) também avaliou o conteúdo mineral de Al hipocalcificada e foi observado que no esmalte o conteúdo de mineral variou de 53,2% a 79,6% em dentes afetados por Al enquanto em dentes não afetados variou de 80,6% a 84,7%. Esses autores defendem que tais diferenças possam estar relacionadas à heterogeneidade das manifestações clínicas das doenças, sendo os casos mais severamente afetados com maior propensão a apresentar desorganização prismática e que o esmalte com Al teve

mais que 30% menos de mineral em volume do que o normalmente apresentado, o que pode ser indicativo de que o influxo de mineral e o crescimento de cristais de apatita tenha sido contido nesse estágio de desenvolvimento (59). Os resultados obtidos neste estudo sugerem que há diminuição no conteúdo mineral dos espécimes avaliados. No entanto, não foi possível a avaliação deste conteúdo nesta pesquisa.

Nos espécimes analisados neste estudo foram encontradas alterações nas características morfológicas ultraestruturais em dentes com hipótese diagnóstica de Amelogênese Imperfeita tipo Hipoplásica e Hipomineralizada, que apresentaram valores inferiores de microdureza quando comparados aos dentes do grupo controle.

No caso do esmalte do grupo afetado pela AI, foram observadas características diferentes em cada espécime, sugerindo retenção de matéria orgânica. Essas diferenças podem estar relacionadas às manifestações clínicas da doença, sendo os casos mais severamente afetados com maior propensão a apresentar características mais expressivas. Na maioria dos espécimes a estrutura prismática e interprismática do esmalte foi preservada, no entanto, em um dos espécimes apresentou-se alterada conforme descrito em estudos anteriores (55,60). Ressalte-se que foi observada em um dos espécimes a presença de material granular amorfo associado aos os primas, que encontram-se desorientados e com diversidade morfológica. Também constatou-se que as áreas com ausência de cristais são semelhantes ao que foi encontrado em outros estudos (55-57,59,60,91-93).

Kerebel e Dalcusi (55), sugerem que as ranhuras dos prismas, perpendiculares a seus longos eixos, podem estar relacionadas à segmentação de prismas e podem ser indicativos de hipomineralização. Segundo Wright e colaboradores em 1992 (60), o material globular associado pode ser produto da formação defeituosa do esmalte, sendo um material orgânico residual misturado aos cristais. No mesmo estudo, ao tratar as superfícies com hipoclorito de sódio observou-se a redução do tamanho dos cristais de AI, o que indica que os cristais estejam unidos ao material orgânico. Este estudo está de acordo com a hipótese de que defeito na maturação do esmalte esteja associado com a retenção de material orgânico e pode ser responsável pelo crescimento desigual do cristal (60).

A heterogeneidade clínica da AI é muito grande e os fenótipos variam bastante tanto em um mesmo indivíduo quanto entre os indivíduos e isso pode influenciar tanto na variação dos valores de dureza quanto nas características estruturais observadas em microscopia eletrônica de varredura, conforme observado por meio desta pesquisa.

Com relação à dentina, na análise de microdureza Vickers, verificou-se que os dentes não afetados por nenhuma das condições em questão apresentaram em média microdureza de 46,9 VHN, resultado semelhante aos valores obtidos em estudos anteriores, com variações entre 45 e 51 VHN (94,95). Assim como constatado na microdureza de esmalte, os dentes de um mesmo indivíduo apresentaram valores semelhantes. Faria-e-Silva, 2011 (62) encontraram valores semelhantes para a dureza em dentina de dentes afetados por AI, tipo hipocalcificado, aproximadamente 57 VHN.

Os espécimes afetados por Dentinogênese Imperfeita do tipo II apresentaram média significativamente menor que a observada em dentes afetados pela condição de Amelogênese Imperfeita tipo Hipoplásica e Hipomineralizada e de dentes não afetados, assim como encontrado por estudo prévio. Uma vez que a dentina apresenta menor dureza que o esmalte, as endentações foram fisicamente maiores nesse tecido.

Os ensaios de microdureza Vickers realizados, em razão do tamanho da endentação criada pelo cristal de diamante, avaliam a dentina como um todo, tanto a dentina peritubular, a intertubular e os túbulos dentinários. No estudo de Kinney e colaboradores em 1996 (9) defendeu-se que o resultado poderia ser afetado por variações como a umidade do espécime, variações na mineralização e orientações e densidade tubular na região da endentação. No entanto, em outro estudo posterior, o mesmo grupo de pesquisadores afirmou que a matriz da dentina intertubular dita o comportamento elástico da dentina e que os túbulos não induzem anisotropia (64,71).

No caso de pontas nanométricas é possível desenvolver ensaios de nanodureza em que podem ser avaliadas áreas específicas como dentina intertubular e peritubular. A dureza peritubular apresenta valores mais altos em comparação à intertubular e acredita-se que um dos fatores responsáveis por isso seja o conteúdo mineral diferenciado entre esses tipos de dentina (96).

Ao analisar por terços os dados de microdureza na dentina, foi observado que o terço interno, nos três grupos avaliados, apresentou uma média dos valores de dureza menor que a média obtida nos demais terços, assim como observado em estudo anterior, que relata que a dureza dentinária diminui no sentido junção amelodentinária-câmara pulpar (64,97). Segundo Kinney *et al.*, 1999 (71), as propriedades mecânicas da dentina são determinadas basicamente pela dentina intertubular e o terço interno da dentina apresenta maiores túbulos e em maior quantidade à medida em que existe uma aproximação da polpa dentária, a dentina intertubular fica reduzida (9,32,10,82,98). Sendo assim, a maior porosidade dentinária remete ao entendimento que, além de menor quantidade de dentina intertubular, existe na região uma menor mineralização e concentração mineral.

Nas endentações realizadas no tecido dentinário do terço cervical dos dentes do grupo DGI-II no sentido junção amelodentinária-câmara pulpar, os dentes afetados por DGI-II apresentaram diferenças estatisticamente significantes e médias mais baixas do que as do grupo controle, além do grupo DGI não apresentar diferenças estatisticamente significativas entre os terços avaliados, diferentemente do grupo controle. Kinney *et al.*, em 2003 (82), verificaram um valor médio de dureza em dentina hidratada afetada por DGI de aproximadamente 20,4 VHN, valor muito próximo ao encontrado pelo presente estudo na área dentinária cervical, 18,4 VHN.

Na análise feita neste estudo por meio de microscopia eletrônica de varredura, assim como descrito por estudos prévios (81,99), pôde ser observado que a dentina afetada por DGI-II apresentou alterações nas características ultraestruturais apenas em dentina, o que confirmou a hipótese deste estudo. As alterações foram observadas na estrutura tubular dentinária, no entanto não foram as mesmas em todos os elementos uma vez que alguns apresentaram distribuição tubular irregular e outros apresentaram regiões atubulares assim como descrito por estudos anteriores (100,101).

Esta família de portadora de DGI-II que cedeu os dentes para este trabalho foi caracterizada em estudo prévio (80), em que foi demonstrado que possuem heterogeneidade clínica, sendo que a maioria dos indivíduos apresentou alteração na coloração coronária e coroas bulbosas além de condutos e câmaras pulpares estreitados ou obliterados. Os resultados da microdureza em dentina associada a

microscopia eletrônica de varredura deste trabalho confirmam o diagnóstico de Dentinogênese Imperfeita do tipo II que já havia sido definido no estudo anterior com o auxílio de microscopia óptica.

Um melhor entendimento da composição dos dentes, a sua ultraestrutura e comportamento mecânico em tecidos normais e afetados pelas condições com hipótese diagnóstica de Amelogênese Imperfeita do tipo Hipoplásica e Hipomineralizada e com diagnóstico de Dentinogênese Imperfeita tipo II é fundamental para a compreensão das alterações que muitas vezes ocorrem no processo de formação dentária por distúrbios sistêmicos ou condições genéticas. As modificações estruturais causadas por essas desordens fazem com que, muitas vezes, sejam tomadas decisões terapêuticas diferenciadas e adequadas à condição específica que o paciente apresenta. A compreensão das propriedades mecânicas dos tecidos mineralizados dentários como dureza e módulo de elasticidade pode conduzir ao melhor entendimento do comportamento desses tecidos em oclusão (75). No entanto há poucos estudos acerca do tema devido à grande dificuldade em se conseguir as amostras para tal. A escassez de estudos acerca do tema dificulta a comparação dos resultados obtidos nesta pesquisa. Mais estudos são necessários para esclarecer sobre as propriedades mecânicas e sobre a ultraestrutura destes tecidos (102).

7 CONCLUSÕES

1- A microdureza no esmalte dos dentes com hipótese diagnóstica de Amelogênese Imperfeita do tipo Hipoplásica e Hipomineralizada foi inferior à observada em dentes não afetados.

2- A microdureza na dentina dos dentes afetados pela condição de Dentinogênese Imperfeita tipo II foi inferior à observada em dentes não afetados.

3- Foram observadas alterações nas características ultraestruturais em dentes com hipótese diagnóstica de Amelogênese Imperfeita do tipo Hipoplásica e Hipomineralizada apenas em esmalte.

4- Foram observadas alterações nas características ultraestruturais em dentes afetados por Dentinogênese Imperfeita tipo II apenas em dentina.

8 REFERÊNCIAS

1. Cobourne MT, Sharpe PT. Tooth and jaw: molecular mechanisms of patterning in the first branchial arch. *Arch Oral Biol* 2003;48(1):1-14.
2. Meredith N, Sherriff M, Setchell, DJ, Swanson SA. Measurement of the microhardness and Young's modulus of human enamel and dentine using an indentation technique. *Arch Oral Biol* 1996;41(6):539-45.
3. Carvalho RM, Santiago SL, Fernandes CA, Suh BI, Pashley DH. Effects of prism orientation on tensile strength of enamel. *J Adhes Dent* 2000;2(4):251-7.
4. Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis." Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists. 1993;4(5):679-728.
5. Nanci A. *Histologia Oral*. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier;2013.
6. Witkop CJ. Hereditary defects in enamel and dentin. *Acta Genet Stat Med* 1957;7(1):236-9.
7. Backman B, Holmgren. Amelogenesis imperfecta: a genetic study. *Hum Hered* 1988;38(4):189-206.
8. Witkop Jr CJ. Amelogenesis imperfecta, dentinogenesis imperfecta and dentin dysplasia revisited: problems in classification. *J Oral Pathol* 1989;17(9-10):547-53.
9. Kinney JH, Balooch M, Marshall SJ, Marshall Jr. GW, Weihs TP. Atomic force microscope measurements of the hardness and elasticity of peritubular and intertubular human dentin. *J Biomech Eng* 1996;118(1):133-5.
10. Kinney JH, Pople JA, Driessen CH, Breunig TM, Marshall GW, Marshall SJ. Intrafibrillar mineral may be absent in dentinogenesis imperfecta type II (DI-II). *J Dent Res* 2001;80(6):1555-9.
11. Mahoney EK, Rohanizadeh R, Ismail FS, Kilpatrick NM, Swain MV. Mechanical properties and microstructure of hypomineralised enamel of permanent teeth. *Biomaterials* 2004a;25(20):5091-100.
12. Thesleff I, Sharpe P. Signalling networks regulating dental development. *Mechan Develop* 1997;67(2):111-23.
13. Thesleff I. Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. *J Cell Sci* 2003;116(9):1647-8.
14. Thesleff I, Nieminen P. Tooth morphogenesis and cell differentiation. *Curr Op Cell Biol* 1996;8(6):844-50.

15. Arana-Chavez VE, Massa LF. Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36(8): 1367-73.
16. Hu JC, Chun YH, Al Hazzazi T, Simmer JP. Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cell Tiss Org* 2007;186(1):78-85.
17. Zeichner-David M, *et al.* Control of ameloblast differentiation. *Int J Develop Biol* 1995;39(1):69-92.
18. Smith CE, Nanci A. Overview of morphological changes in enamel organ cells associated with major events in amelogenesis. *Int J Develop Biol* 1995;39(1):153-61.
19. Simmer JP, Hu JC. Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J Dent Educ* 2001;65(9):896-905.
20. Fincham AG, *et al.* Evidence for amelogenin "nanospheres" as functional components of secretory-stage enamel matrix. *J Struct Biol* 1995;115(1):50-9.
21. Fincham AG, Moradian-Oldak J, Simmer JP. The structural biology of the developing dental enamel matrix. *J Struct Biol* 1999;126(3):270-99.
22. Paine ML, Snead ML. Tooth developmental biology: disruptions to enamel-matrix assembly and its impact on biomineralization. *Orthod Craniofac Res* 2005;8(4):239-51.
23. Sire JY, Davit-Beal T, Delgado S, Gu X. The origin and evolution of enamel mineralization genes. *Cell Tiss Org* 2007;186(1):25-48.
24. Simmer JP, Fincham AG. Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Am Assoc Oral Biol* 1995;6(2):84-108.
25. Veis A. Amelogenin gene splice products: potential signaling molecules. *Cell Molec Life Sci* 2003;60(1):38-55.
26. Skobe Z, LaFrazia F, Prostack, K. Correlation of apical and lateral membrane modulations of maturation ameloblasts. *J Dent Res* 1985;64(8):1055-61.
27. Warshawsky H, Smith CE. Morphological classification of rat incisor ameloblasts. *Anat Rec* 1974;179(4):423-46.
28. Sano H, *et al.* Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater* 1994;10(4): 236-40.
29. Urabe I, Nakajima S, Sano H, Tagami J. Physical properties of the dentin-enamel junction region. *Am J Dent* 2000;13(3):129-35.
30. Gwinnett AJ. Structure and composition of enamel. *Oper Dent Suppl* 1992;5:10-7.

31. Katchburian E, Arana V. *Histologia e Embriologia Oral: texto, atlas, correlações clínicas*. São Paulo: Panamericana;1999.
32. Kinney JH, Balooch M, Marshall SJ, Marshall Jr GW, Weihs TP. Hardness and Young's modulus of human peritubular and intertubular dentine. *Arch Oral Biol* 1996;41(1):9-13.
33. Carvalho RM, Santiago SL, Fernandes CA, Suh BI, Pashley DH. Effects of prism orientation on tensile strength of enamel. *J Adhes Dent* 2000;2(4):251-7.
34. Park S, Wang DH, Zhang D, Romberg E, Arola D. Mechanical properties of human enamel as a function of age and location in the tooth. *J Mater Sci* 2008;19(6):2317-24.
35. Robinson C, Kirkham J, Brookes SJ, Bonass WA, Shore RC. The chemistry of enamel development. *Int J Develop Biol* 1995;39(1):145-52.
36. Wright JT. The molecular etiologies and associated phenotypes of amelogenesis imperfecta. *Am J Med Genet Part A* 2006;140(23):2547-55.
37. Sebnem Türkün L. Conservative restoration with resin composites of a case of amelogenesis imperfecta. *Int Dent J* 2005;55(1):38-41.
38. Sholapurkar AA, et al. Clinical diagnosis and oral rehabilitation of a patient with amelogenesis imperfecta: a case report. *J Contemp Dent Prac* 2008;9(4):92-8.
39. Seow WK. Clinical diagnosis of enamel defects: pitfalls and practical guidelines. *Int Dent J* 1997;47(3):173-82.
40. Aldred MJ, Savarirayan R, Crawford PJ. Amelogenesis imperfecta: a classification and catalogue for the 21st century. *Oral Diseases* 2003;9(1):19-23.
41. Crawford PJ, Aldred M, Bloch-Zupan A. Amelogenesis imperfecta. *Orphan J Rare Diseases* 2007;2:17.
42. Aldred MJ, Crawford PJ. Amelogenesis imperfecta--towards a new classification. *Oral Diseases* 1995;1(1):2-5.
43. Sengun A, Ozer F. Restoring function and esthetics in a patient with amelogenesis imperfecta: a case report. *Quintessence Int* 2002;33(3):199-204.
44. El-Sayed W, Shore RC, Parry DA, Inglehearn CF, Mighell AJ. Hypomaturation amelogenesis imperfecta due to WDR72 mutations: a novel mutation and ultrastructural analyses of deciduous teeth. *Cell Tiss Org* 2011;194(1): 60-6.
45. Lagerstrom M, Dahl N, Nakahori Y, Nakagome Y, Backman B, Landegren U. A deletion in the amelogenin gene (AMG) causes X-linked amelogenesis imperfecta (AIH1). *Genomics* 1991;10:971-5.
46. Dong J, Gu TT, Simmons D, Macdougall M. Enamelin maps to human chromosome 4q21 within the autosomal dominant amelogenesis imperfecta

locus. *Eur J Oral Sci* 2000;108:353-8.

47. Hart PS, Hart TC, Michalec MD, Ryu OH, Simmons D, Hong S. Mutation in kalikrein 4 causes autosomal recessive hypomaturation amelogenesis imperfecta. *J Med Genet* 2004;41:545-59.

48. Kim JW, Simmer JP, Hart TC, Hart PS, Ramaswami MD, Bartlett JD. MMP-20 mutation in autosomal recessive pigmented hypomaturation amelogenesis imperfecta. *J Med Genet* 2005;42:271-5.

49. Dong J, Amor D, Aldred MJ, Gu TT, Escamilla M, Macdougall M. DLX3 mutation associated with autosomal dominant amelogenesis imperfecta with taurodontism. *Am J Med Genet A* 2005;133:138-41.

50. El-Sayed W, et al. Mutations in the beta propeller WDR72 cause autosomal-recessive hypomaturation amelogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet* 2009;85(5):699-705.

51. Parry DA, et al. Mutations in C4orf26, encoding a peptide with in vitro hydroxyapatite crystal nucleation and growth activity, cause amelogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet* 2012;91(3):565-71.

52. Wang SK, et al. FAM20A mutations can cause enamel-renal syndrome (ERS). *PLoS Genet* 2013;9(2):e1003302.

53. Poulter JA, et al. Whole-exome sequencing, without prior linkage, identifies a mutation in LAMB3 as a cause of dominant hypoplastic amelogenesis imperfecta. *Eur J Hum Genet* 2013.

54. Snead CM, et al. Identification of a pH-responsive DNA region upstream of the transcription start site of human NBCe1-B. *Eur J Oral Sci* 2011;119 (1):136-41.

55. Kerebel B, Daculsi G. Ultrastructural study of amelogenesis imperfecta. *Calcif Tiss Res* 1977;24(2):191-7.

56. Uzamis M, Celik H, Erkmen N, Batirbaygil Y. Scanning electron microscopic study of hypoplastic type amelogenesis imperfecta in primary teeth. *J Clin Ped Dent* 1997;21(3):265-8.

57. Seymen F, Kiziltan B. Amelogenesis imperfecta: a scanning electron microscopic and histopathologic study. *J Clin Ped Dent* 2002;26(4):327-35.

58. Escobar VH, Goldblatt LI, Bixler D. A clinical, genetic, and ultrastructural study of snow-capped teeth: amelogenesis imperfecta, hypomaturation type. *Oral Surg Med Pathol* 1981;52(6):607-14.

59. Wright JT, Duggal MS, Robinson C, Kirkham J, Shore R. The mineral composition and enamel ultrastructure of hypocalcified amelogenesis imperfecta. *J Craniofac Genet Develop Biol* 1993;13(2):117-26.

60. Wright JT, Lord V, Robinson C, Shore R. Enamel ultrastructure in pigmented hypomaturation amelogenesis imperfecta. *J Oral Pathol Med* 1991;21(9):390-4.

61. Suckling GW, Nelson DGA, Patel MJ. Macroscopic and scanning electron microscopic appearance and hardness values of developmental defects in human permanent tooth enamel. *Adv Dent Res* 1989;3(2):219-33.
62. Faria-e-Silva AL, Moraes RR, Meneses MS, Capanema RR, Moura AS, Martelli-Júnior H. Hardness and microshear bond strength to enamel and dentin of permanent teeth with hypocalcified amelogenesis imperfecta. *Int J Ped Dent* 2001; 21;314-20.
63. Mahoney EK, Holt A, Swain M, Kilpatrick N. The hardness and modulus of elasticity of primary molar teeth: an ultra-micro-indentation study. *J Dent* 2000;28: 589-94.
64. Tesch W, *et al.* Graded microstructure and mechanical properties of human crown dentin. *Calcif Tiss Int* 2001;69(3):147-57.
65. Ruch JV, Lesot H, Begue-Kirn C. Odontoblast differentiation. *Int J Develop Biol* 1995;39(1):51-68.
66. Bonucci E. Matrix vesicles: their role in classification. Dentin and Dentinogenesis. *CRC Press* 1984;1:135-54.
67. Anderson HC. Molecular biology of matrix vesicles. *Clin Orthop Relat Res* 1995; 314:266-80.
68. Bonucci E. Crystal ghosts and biological mineralization: fancy spectres in an old castle, or neglected structures worthy of belief? *J Bone Miner Metab* 2002;20(5):249-65.
69. Hart PS, Hart TC. Disorders of human dentin. *Cell Tiss Org* 2007;186(1):70-7.
70. Kinney JH, Habelitz S, Marshall GW, Marshall SJ. The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. *J Dent Res* 2003;82(12):957-61.
71. Kinney JH, Balooch M, Marshall GW, Marshall SJ. A micromechanics model of the elastic properties of human dentine. *Arch Oral Biol* 1999;44(10):813-22.
72. Boskey AL. Biomineralization: an overview. *Connec Tiss Res* 2003;44(1):5-9.
73. Butler WT. Dentin matrix proteins. *Eur J Oral Sci* 1998;106(1):204-10.
74. Butler WT, Brunn JC, Qin C. Dentin extracellular matrix (ECM) proteins: comparison to bone ECM and contribution to dynamics of dentinogenesis. *Connec Tiss Res* 2003;44(1):171-8.
75. Marshall Jr GW. Dentin: microstructure and characterization. *Quintessence Int* 1993;24(9):606-17.
76. Habelitz S, Marshall Jr GW, Balooch M, Marshall SJ. Nanoindentation and storage of teeth. *J Biomech* 2002;35(7):995-8.

77. Shields ED, Bixler D, el-Kafrawy AM. A proposed classification for heritable human dentine defects with a description of a new entity. *Arch Oral Biol* 1973;18(4):543-53.
78. Rios D, Vieira AL, Tenuta LM, Machado MA. Osteogenesis imperfecta and dentinogenesis imperfecta: associated disorders. *Quintessence Int* 2005;36(9):695-701.
79. MacDougall M, Dong J, Acevedo AC. Molecular basis of human dentin diseases. *Am J Med Genet. Part A* 2006;140(23):2536-46.
80. Acevedo AC, Santos LJ, Paula LM, Dong J, MacDougall M. Phenotype characterization and DSPP mutational analysis of three Brazilian dentinogenesis imperfecta type II families. *Cell Tissue Res* 2009;189(1-4):230-6.
81. Kerebel B, Daculsi G, Menanteau J, Kerebel LM. The inorganic phase in dentinogenesis imperfecta. *J Dent Res* 1981;60(9):1655-60.
82. Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW. The mechanical properties of human dentin: a critical review and re-evaluation of the dental literature. *Critical reviews in oral biology and medicine: an official publication of the American Association of Oral Biologists* 2003;14(1):13-29.
83. Balooch, M., S. Habelitz, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW. Mechanical properties of mineralized collagen fibrils as influenced by demineralization. *J Struct Biol* 2008;162(3): 404-10.
84. Reis AF, Oliveira MT, Giannini M, De goes MF, Rueggerberg FA. The effect of organic solvents on one-bottle adhesives bond strength to enamel and dentin. *Oper Dent* 2003;28(6):700-6.
85. Silva ALF, Lima DANL, Souza GMD, Santos CTD, Paulillo LAMS. Influence of additional adhesive application on the microtensile bond strength of adhesive systems. *Oper Dent* 2006;31:562-8.
86. Khamverdi Z, Kasraie Sh, Rezaei-Souf L, Jebeli S. Comparison of the effects of two whitening Toothpastes on microhardness of the enamel and a microhybrid composite resin: an in vitro Study. *J Dent* 2010;7(3):139-45.
87. Bedini R, Manzon L, Fratto G, Pecci R. Microhardness and morphological changes induced by Nd:YAG laser on dental enamel: an in vitro study. *Ann Ist Super Sanità*, 2010;46(2):168-72.
88. Cuy JL, Mann AB, Livi KJ, Teaford MF, Weihs TP. Nanoindentation mapping of the mechanical properties of human molar tooth enamel. *Arch Oral Biol* 2002;47:281-91.
89. Braly A, Darnell LA, Mann AB, Teaford MF, Weihs TP. *Arch Oral Biol* 2007;52:856.

90. Mahoney EK, Ismail FSM, Kilpatrick N, Swain M. Mechanical properties across hypomineralized/hypoplastic enamel of first permanent molar teeth. *Eur J Oral Sci* 2004b;112:449-502.
91. Wright JT, Robinson C, Shore R. Characterization of the enamel ultrastructure and mineral content in hypoplastic amelogenesis imperfecta. *Oral Surg Med Pathol* 1991;72(5):594-601.
92. Aldred MJ, Crawford PJ, Rowe W, Shellis RP. Scanning electron microscopic study of primary teeth in X-linked amelogenesis imperfecta. *J Oral Pathol* 1992;21(4):186-92.
93. Backman B, *et al.* The absence of correlations between a clinical classification and ultrastructural findings in amelogenesis imperfecta. *Acta Odontol Scandin* 1993;51(2):79-89.
94. Nakano F, Takahashi H, Nishimura F. Reinforcement mechanism of dentin mechanical properties by intracanal medicaments. *Dent Mater* 1999;18(3):304-13.
95. Castanho GM, Marques MM, Marques JM, Camargo MA, De Cara AA. Micromorphological and hardness analyses of human and bovine sclerotic dentin: a comparative study. *Braz Oral Res* 2011;25(3):274-9.
96. Angker L, Swain MV, Kilpatrick N. Micro-mechanical characterisation of the properties of primary tooth dentine. *J Dent* 2003;31:261-7.
97. Ogawa K, Yamashita Y, Ichijo T, Fusayama T. The ultrastructure and hardness of the transparent layer of human carious dentin. *J Dent Res* 1983;62(1):7-10.
98. Pashley DH, Okabe A, Parham P. The relationship between dentin microhardness and tubule density. *Endod Dent Traumatol* 1985;1(5):176-9.
99. Wright JT, Gantt DG. The ultrastructure of the dental tissues in dentinogenesis imperfecta in man. *Arch Oral Biol* 1985;30(2):201-6.
100. Kerebel B. Dentinogenesis imperfecta: a structural and ultrastructural study. *Suiss Odontol Stomat* 1975;85(12):1264-81.
101. Waltimo J, Ranta H, Lukinmaa PL. Ultrastructure of dentin matrix in heritable dentin defects. *Scannig Microsc* 1995;9(1):185-97.
101. Kishen A, Ramamurty U, Asundi A. Experimental studies on the nature of property gradients in the human dentine. *J Biomed Mater Res* 2000;51:650-9.

ANEXO – DOCUMENTO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/FS

PROCESSO DE ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro do Projeto no CEP: 078/09

Título do Projeto: Avaliação das propriedades mecânicas de tecidos entários mineralizados em dentes afetados por amelogenese imperfeita e dentinogênese imperfeita.

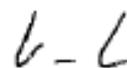
Pesquisadora Responsável: Gustavo Adolfo Gonçalves Rivera M. Santos

Data de Entrada: 13/08/2009

Com base na Resolução 196/96, do CNS/MS, que regulamenta a ética em pesquisa com seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, após análise dos aspectos éticos e do contexto técnico-científico, resolveu **APROVAR** o projeto 078/09 com o título: "Avaliação das propriedades mecânicas de tecidos dentários mineralizados em dentes afetados por amelogenese imperfeita e dentinogênese imperfeita", analisado na 9ª Reunião Ordinária, realizada no dia 13 de outubro de 2009.

A pesquisadora responsável fica, desde já, notificada da obrigatoriedade da apresentação de um relatório semestral e relatório final sucinto e objetivo sobre o desenvolvimento do Projeto, no prazo de 1 (um) ano a contar da presente data (item VII.13 da Resolução 196/96).

Brasília, 13 de outubro de 2009.



Prof. Volnei Garrafa
Coordenador do CEP-FS/UnB