



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA



MATHEUS ELIAS ROSSI

**ANÁLISE QUÍMICA DA DENTINA
RADICULAR IRRADIADA E SUA
INTERAÇÃO COM CIMENTOS RESINOSOS**

UBERLÂNDIA

2021

MATHEUS ELIAS ROSSI

**ANÁLISE QUÍMICA DA DENTINA
RADICULAR IRRADIADA E SUA
INTERAÇÃO COM CIMENTOS RESINOSOS**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado a Faculdade de
Odontologia da UFU, como requisito
parcial para obtenção do título de
Graduado em Odontologia

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Veridiana
Resende Novais Simamotto

Co-orientador: Me. Rafael Resende de
Miranda

UBERLÂNDIA

2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado a vida.

Aos meus pais Nivaldo e Luciana que sempre estiveram ao meu lado me dando todo apoio durante minha trajetória e aos meus irmãos Antonio e Camila que mesmo tão pequenos foram capazes de deixar minha vida gigante;

À minha namorada Mariana por todo companheirismo, incentivo, amor e amizade. Obrigado por todo carinho, é um prazer dividir essa vitória com você.

Agradeço a minha orientadora, Professora Veridiana pela confiança depositada em mim e por sempre estar presente para indicar a direção correta que o trabalho deveria tomar ;

Ao meu co-orientador e amigo Rafael por ter me ensinado tanto e ter me dado várias oportunidades durante minha vida acadêmica.

Agradeço também ao Alessandro por ter dividido comigo seu trabalho e me ensinou coisas essenciais para minha formação;

À minha dupla de clínica Ana Carolina por todos os perrengues passados e por todo aprendizado compartilhado;

Também quero agradecer à Universidade Federal de Uberlândia e todo seu corpo docente pelo comprometimento com a qualidade e excelência de ensino

Aos órgãos de fomento que permitiram e incentivaram a realização deste trabalho;

Agradeço à bateria dentadura, a bateria virulenta e todos seus respectivos integrantes que fizeram da minha faculdade menos tortuosa e muito mais feliz.

Aos meus amigos que estiveram sempre presente tantos nos momentos fáceis quanto nos difíceis.

E a todos que de alguma forma contribuíram para minha formação.

SUMÁRIO

Resumo	04
Introdução	05
Delineamento experimental	07
Materiais e Métodos	08
Resultados	17
Discussão	20
Conclusão	24
Referências bibliográficas	25

1. RESUMO

O objetivo deste estudo foi investigar as alterações químicas da dentina radicular submetida à radiação ionizante *in vitro* e como isso afeta sua interação com cimentos resinosos. Para isso, 32 pré-molares humanos foram divididos aleatoriamente em dois grupos (n=16): não irradiado e irradiado. Em seguida, esses grupos foram divididos em dois subgrupos de acordo com o tipo de cimento resinoso (n=8): convencional (RelyX ARC, 3M ESPE) e autoadesivo (RelyX U200, 3M ESPE). Após tratamento endodôntico e cimentação dos pinos de fibra de vidro, as raízes foram seccionadas longitudinalmente. As fatias foram analisadas por meio de Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR) para verificar alterações químicas na dentina radicular de acordo com os terços cervical, médio e apical. Os dados obtidos foram usados para calcular as razões mineral/matriz (M:M), carbonato/mineral (C:M), amida I/amida III e amida I/CH₂. Além disso, 3 amostras de cada grupo foram avaliadas por Espectroscopia Raman para estimar a zona de difusão dos cimentos e sua interação química com a dentina. Para análise estatística, os dados FTIR foram submetidos ao teste ANOVA One-way com medidas repetidas (terços) e, em seguida, teste de Tukey. Já para a espectroscopia Raman, os dados foram analisados com teste ANOVA Two-way ($\alpha=0,05$). Na razão M:M, ANOVA One-way com medidas repetidas mostrou diferença significativa somente no grupo não irradiado para os terços ($p<0,001$), sem diferença estatística para a interação entre terço e irradiação ($p=0,826$). Para a razão C:M, houve diferença significativa apenas para irradiação ($p=0,001$), sendo que em todos os terços a dentina irradiada apresentou menores valores da razão C:M se comparada à não irradiada. Na razão amida I/amida III, não houve diferença significativa para nenhum dos fatores em estudo. Já na razão amida I/CH₂, houve diferença significativa apenas para terço dentro do grupo não irradiado ($p=0,007$). Os dados da espectroscopia Raman mostraram que não houve diferença entre os grupos quanto à irradiação ($p=0,818$), tipo de cimento ($p=0,381$) ou interação entre eles ($p=0,273$). Portanto, conclui-se que a radiação ionizante alterou a composição química das moléculas na dentina radicular, principalmente no terço cervical.

Palavras-chave: análise química, cimento resinoso, dentina, radioterapia.

2. INTRODUÇÃO

A radioterapia é uma modalidade de tratamento rotineiramente utilizada para tratamento de neoplasias malignas na cavidade oral, podendo ser associada à quimioterapia e/ou cirurgia em alguns casos (Schutte et al., 2020). Os avanços tecnológicos combinados ao conhecimento científico têm melhorado os recursos para diagnóstico e tratamento destas neoplasias, aumentando a taxa de sucesso do tratamento nos pacientes oncológicos (Aro et al., 2018; Borumandi e Cascarini, 2018; Comelli et al., 2018; Kim et al., 2018). Entretanto, apesar da radiação ionizante destruir as células tumorais, ela pode também causar danos aos tecidos saudáveis como ossos, mucosa, dentes e glândulas salivares que estiverem localizados na área irradiada. Assim, as funções orais podem ser prejudicadas e visitas mais frequentes do paciente ao dentista podem ser necessárias (Tolentino et al., 2011; Jawad et al., 2015; Bhandari et al., 2020).

Efeitos adversos da radioterapia, como xerostomia e hipossalivação, associados às alterações nas propriedades químicas e mecânicas dos dentes podem resultar em uma severa destruição do esmalte e da dentina (Tolentino et al., 2011; Soares et al., 2011; Naves et al., 2012; Gonçalves et al., 2014; Gupta et al., 2015; Rodrigues et al., 2018; Lopes et al., 2018; Miranda et al., 2019). Nesses casos a reabilitação pode ser difícil, visto que procedimentos cirúrgicos como exodontia e instalação de implantes não são recomendados devido ao risco de osteorradionecrose (Jawad et al., 2015). O uso de retentores intrarradiculares para restaurações diretas ou indiretas em dentes com extensa destruição coronária torna-se uma opção bastante viável (Santos-Filho et al., 2014; Novais et al., 2016; Soares et al., 2018.)

Pinos de fibra de vidro são comumente usados por conta da baixa tensão e menor deformação causadas no interior do canal radicular, diminuindo o risco de fraturas radiculares (Wang et al., 2019). Nesse sentido, a interação química dos cimentos resinosos com a dentina é um fator importante para a retenção dos pinos de fibra no interior do canal (Ubalini et al., 2018). Todavia, procedimentos restauradores adesivos realizados em dentes irradiados constituem um verdadeiro desafio para a dentística restauradora, devido à frágil interface adesiva e frequente ocorrência de fraturas coesivas em dentina (Aggarwal, 2009; Rodrigues et al., 2018; Yamin et al., 2018). Cimentos resinosos convencionais têm excelente padrão de adesividade ao pino e à dentina radicular, porém são bastante sensíveis à técnica devido ao grande número de passos para sua

realização, maior risco de secagem em demasia ou condicionamento ácido excessivo dentro do canal (Farina et al., 2016; Rodrigues et al., 2017). Por outro lado, cimentos resinosos autoadesivos têm sido amplamente utilizados na odontologia devido à facilidade de manuseio e resultados de adesão bastante satisfatórios, principalmente no que se refere à cimentação de pinos de fibra (Amaral et al., 2011).

Pesquisas científicas nessa área ainda são escassas, porém são necessárias para possibilitar reabilitações orais seguras em pacientes submetidos à radioterapia na região de cabeça e pescoço. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi investigar as alterações químicas da dentina radicular submetida à radiação ionizante *in vitro* e como isso afeta sua interação com cimentos resinosos. As hipóteses nulas testadas foram: (1) a radiação *in vitro* não altera a composição química da dentina radicular, independentemente do terço radicular; (2) a radiação *in vitro* não altera a interação dos cimentos resinosos com a dentina radicular, independentemente do tipo de cimento.

3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A- Unidade experimental: Pré-molares humanos unirradiculares.

B- Fator em estudo: Irradiação em dois níveis (não irradiado e irradiado); Tipo de cimento resinoso em dois níveis (convencional e autoadesivo).

C- Variáveis respostas: Composição química (razões M:M, C:M, amida I/amida III e amida I/CH₂); Zona de difusão do cimento.

D- Métodos de análise: Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR); Espectroscopia Raman.

E- Método estatístico: Para a espectroscopia FTIR foi usado teste ANOVA One-way com medidas repetidas e, em seguida, teste de Tukey. Para a espectroscopia Raman foi usado teste ANOVA Two-way e, logo após, teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Revisão de literatura

O levantamento bibliográfico do tema foi feito a partir de trabalhos publicados em periódicos nacionais e internacionais, por meio do acesso às bases de dados (MEDLINE, BIREME e SCIELO). Os trabalhos disponíveis nos sites de busca ou acessíveis no portal de periódicos CAPES foram obtidos.

4.2. Obtenção dos dentes

Após a aprovação pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia (protocolo nº 11830919.0.0000.5152), 32 pré-molares humanos unirradiculares, com canal de tamanho maior ou igual a 14 mm com formação radicular completa foram selecionados para o estudo. Os critérios de exclusão eram a presença de reabsorção radicular, cáries radiculares, fraturas ou tratamento endodôntico prévio. Os dentes foram limpos e armazenados em água deionizada a 4°C por até 3 meses após a extração.

4.3. Irradiação das amostras

Os dentes foram aleatoriamente divididos em dois grupos (n=16): não irradiado e irradiado. Os dentes foram mantidos em água deionizada a 4°C trocada semanalmente (Gonçalves et al., 2014; Martins et al., 2016). O protocolo de irradiação *in vitro* utilizado consistia em uma dose total de 70 Gy, sendo 2 Gy aplicados diariamente, 5 dias na semana, durante 7 semanas, com o equipamento acelerador linear (Clinac 600C Varian®, Palo Alto, CA, EUA - feixe de 6 MV) (Figura 1). Durante a irradiação, os dentes foram fixados em placas de cera utilidade (Technew, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e mantidos imersos em saliva artificial (pH 7,0) a temperatura ambiente. A saliva foi trocada a cada 15 dias e a saliva antiga era descartada (Gonçalves et al., 2014; Martins et al., 2016).



Figura 1: Irradiação dos dentes com o acelerador linear.

4.4. Corte e tratamento endodôntico dos dentes

Os dentes foram fixados em placas de acrílico com cera pegajosa (Kerr Corporation, CA, EUA) e seccionados com disco diamantado de dupla face (Isomet, série 15HC diamante; Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) montado em cortadeira de precisão sob refrigeração (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) para padronizar o comprimento das raízes em 14 mm. Em seguida, o canal radicular foi localizado com uma lima tipo K nº15 (Dentsply Malleifer, Petrópolis, RJ, Brasil) que foi introduzida no canal até ser vista através do forame apical. O comprimento real de trabalho estabelecido foi de 1 mm aquém do forame apical.

O preparo do canal foi feito com instrumentos Reciproc R50, de diâmetro 0,50 mm e conicidade 0,05 mm (VDW GmbH, Munique, Alemanha). Os canais radiculares foram preparados seguindo as recomendações do fabricante, sendo

que o instrumento recíprocante era trocado a cada 5 dentes preparados. Os canais foram irrigados com 2 mL de hipoclorito de sódio 2,5% (Q-bon, Osasco, SP, Brasil) entre cada etapa do preparo. Após o preparo, a irrigação final foi feita com 2 mL de ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) 17% (Biodinâmica, Ibioporã, PR, Brasil) por 3 minutos e irrigação ultrassônica passiva com ponta E1-Irrisonic (Helse Ultrasonic, Santa Rosa de Viterbo, SP, Brasil) por 20 segundos, seguido de irrigação com 5 mL de NaOCl 2,5% e 10 mL de água deionizada. Os canais foram secados com cânulas de sucção e cones de papel absorvente (Tanari Industrial Ltda., Manaus, AM, Brasil) (Yamin et al., 2018). A obturação foi feita com cone de guta percha número 50 (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) e cimento AH Plus (Dentsply Sirona, Konstanz, Alemanha) (Martins et al., 2016). Após a adaptação do cone principal e dos cones acessórios por condensação lateral, as amostras foram armazenadas em 100% de umidade a 37°C por 24 horas. O preparo e obturação dos canais de todas as amostras foram feitos pelo mesmo operador.

4.5. Preparo do conduto e cimentação do pino de fibra

Após 24 horas, a guta percha foi removida numa profundidade de 10 mm com brocas Gates-Glidden de tamanhos 2 a 4 (Dentsply Sirona Endodontics, Ballaigues, Suíça) (Figuras 2A e 2B). Os 3 mm remanescentes de material obturador foram confirmados por radiografia digital. Então, as raízes foram preparadas com uma broca específica do pino (White Post DC#1; FGM, Joinville, SC, Brasil) (Figura 2C) de acordo com as recomendações do fabricante. O canal foi irrigado com NaOCl 2,5% durante o alívio e posteriormente inundado com água deionizada por meio de irrigação ultrassônica passiva com ponta E1-Irrisonic (Helse Ultrasonic) por 20 segundos. Assim, os canais foram secos com cones de papel absorvente (Tanari Industrial Ltda) e distribuídos em 2 subgrupos de acordo com o tipo de cimento resinoso utilizado (n=8): cimento convencional RelyX ARC (3M ESPE, St Paul, MN, EUA) e cimento autoadesivo RelyX U200 (3M ESPE, St Paul, MN, EUA).

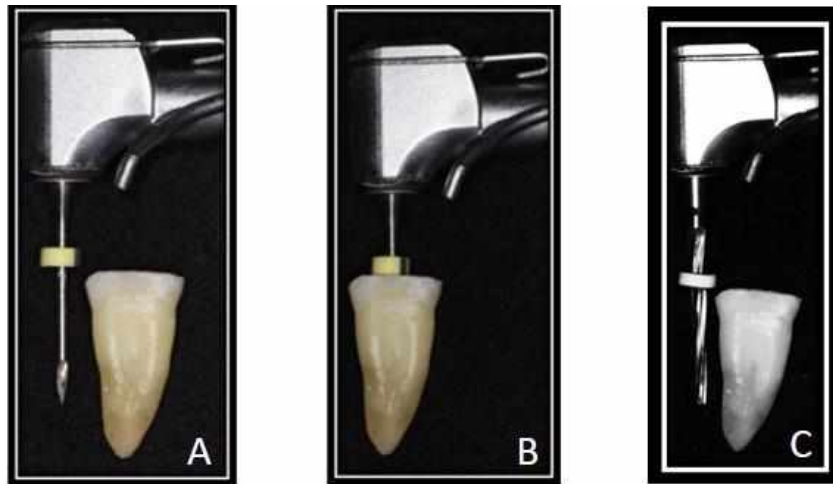


Figura 2: A) Broca Gates-Glidden tamanho 2; B) Remoção de guta percha com broca Gates-Glidden; C) Broca específica do pino White Post DC#1.

Para cimentação com cimento convencional, os canais foram condicionados com ácido fosfórico 37% (Condac®, FGM, Joinville, Brasil) por 15 segundos seguido de irrigação com 10 mL de água deionizada e secagem com cones de papel absorvente (Tanari Industrial Ltda). O adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foi aplicado com auxílio de microbrush (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) em toda a superfície interna do canal radicular, seguido de um leve jato de ar e uma segunda camada de adesivo. Após remoção dos excessos, o adesivo foi fotopolimerizado por 40 segundos a 1100 mW/cm² usando um LED de alta potência (Valo, Ultradent, South Jordan, UT, EUA). Já para cimentação com cimento autoadesivo, nenhum condicionamento prévio do canal radicular foi realizado.

Cada pino de fibra de vidro (White Post DC#1; FGM, Joinville, SC, Brasil) foi tratado com peróxido de hidrogênio 35% (Whiteness HP, FGM, Joinville, SC, Brasil) por 1 minuto, lavado com água deionizada e seco com jato de ar por 30 segundos (Figura 3). Em seguida, foi feita a aplicação de silano (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) no pino durante 1 minuto (Figura 4) (Valdivia et al., 2014). Antes da cimentação, as raízes foram envoltas em cera vermelha (Technew, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) para prevenir uma polimerização adicional do cimento. Os cimentos foram manipulados de acordo com as recomendações do fabricante e inseridos no canal com auxílio de seringa Centrix (Maquira, Maringá, PR, Brasil)

(Figura 5A) até o material preencher e extravasar pelo canal (Figura 5B), a fim de evitar formação de bolhas (Silva et al., 2019).

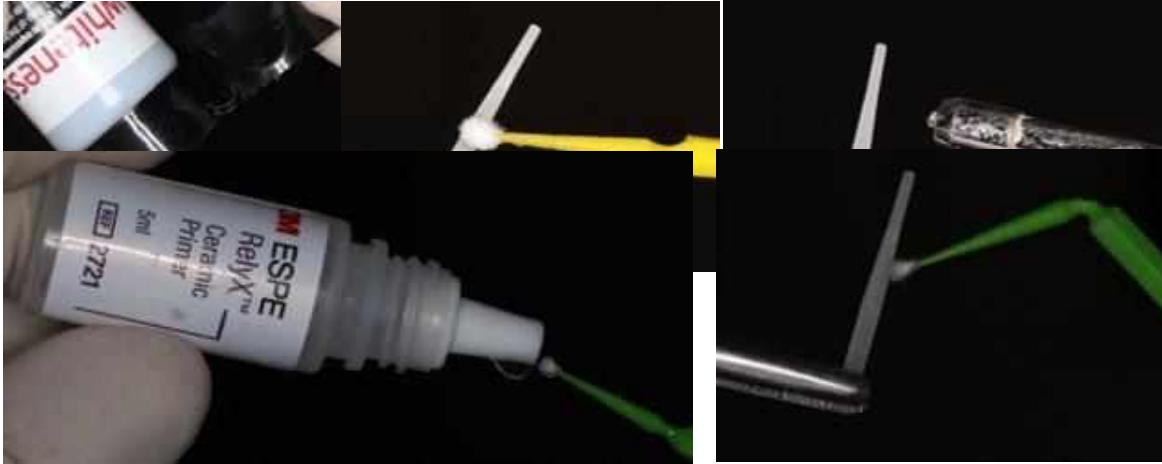


Figura 3: Peróxido de hidrogênio 35% aplicado na superfície do pino por 1 minuto, seguido de lavagem e secagem com jato de ar.

Figura 4: Aplicação do silano na superfície do pino por 1 minuto.

O pino de fibra de vidro foi então inserido no canal e mantido sob pressão digital por 5 minutos para aguardar a presa química do cimento (Pereira et al., 2015). Após a ativação química, a fotopolimerização foi feita com o mesmo aparelho LED numa potência de 1100 mW/cm² por 40 segundos em 3 faces da amostra (vestibular, lingual e oclusal), totalizando 120 segundos (Figura 5C). Os espécimes foram armazenados em 100% de umidade a 37°C por 7 dias.

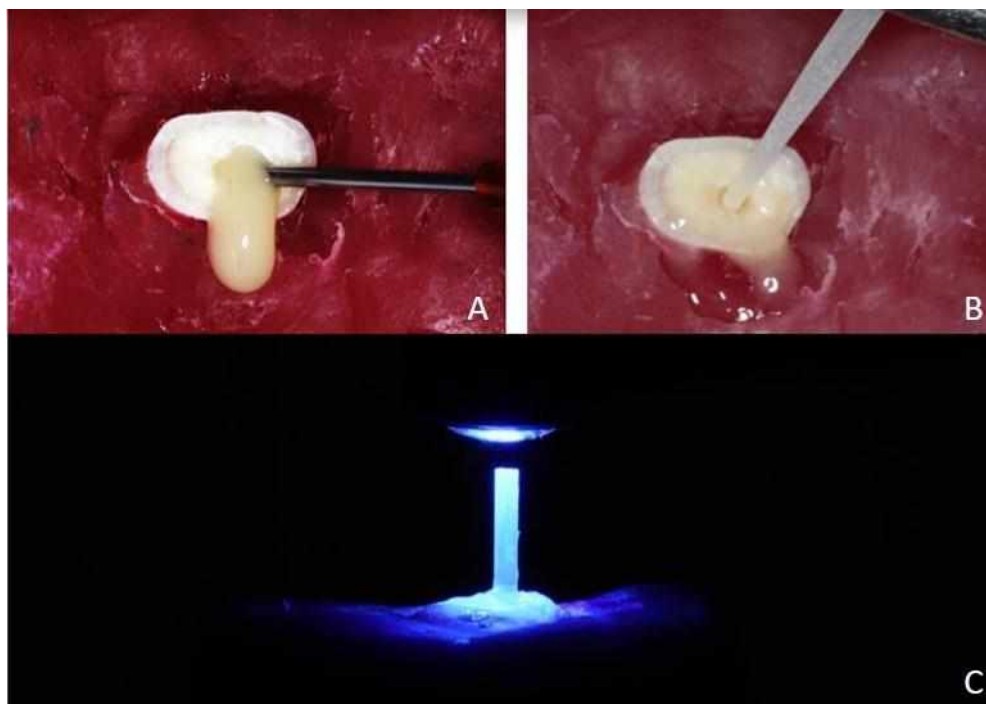


Figura 5: A) Inserção do cimento no canal com seringa Centrix; B) Extravasamento de material pelo canal e inserção do pino de fibra; C) Fotopolimerização do cimento com aparelho LED por 40 segundos.

4.6. Seccionamento das amostras

Decorridos 7 dias, as raízes com os pinos de fibra foram seccionadas ao meio seguindo o longo eixo do dente com disco diamantado de dupla face (Isomet, série 15HC diamante) montado em cortadeira de precisão sob refrigeração (Isomet 1000). As raízes seccionadas e com a interface adesiva exposta foram lavadas com água deionizada em banho ultrassônico por 5 minutos para remoção de detritos deixados na superfície durante o seccionamento. Em seguida, as amostras foram analisadas por meio de Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR) e Espectroscopia Raman.

4.7. Espectroscopia infravermelha transformada de Fourier (FTIR)

A composição química das amostras dos grupos não irradiado e irradiado foi determinada utilizando Espectrômetro Infravermelho com Transformada de

Fourier (Vertex 70, Bruker, Ettlingen, Alemanha) por meio da técnica de Reflexão Total Atenuada (ATR). A superfície da dentina foi posicionada em contato com o cristal de diamante da unidade ATR e pressionada constantemente por uma garra do equipamento (Figura 6). Os espectros foram obtidos em um intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} , com uma resolução de 4 cm^{-1} . Cada amostra foi escaneada 32 vezes e o espectro final obtido foi a média de todos esses escaneamentos. Os espectros foram registrados e analisados pelo software OPUS 6,5 (Bruker, Ettlingen, Alemanha).

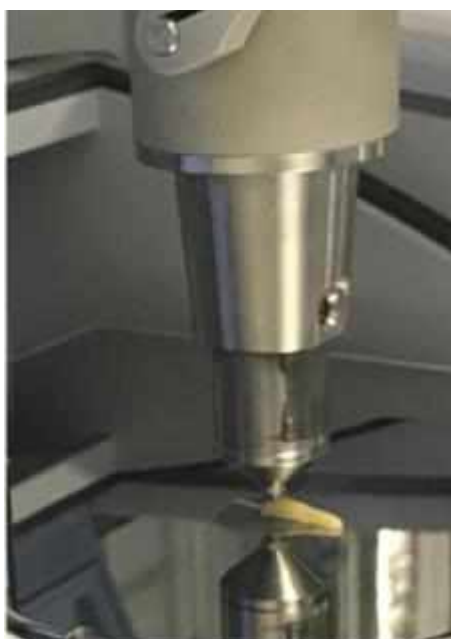


Figura 6: Amostra posicionada sob o cristal da unidade ATR/FTIR.

As bandas analisadas nos espectros foram amida I ($1815 \text{ cm}^{-1} - 1590 \text{ cm}^{-1}$), amida III ($1351 \text{ cm}^{-1} - 1180 \text{ cm}^{-1}$), CH_2 ($1420 \text{ cm}^{-1} - 1480 \text{ cm}^{-1}$), fosfato ($1181 \text{ cm}^{-1} - 886 \text{ cm}^{-1}$) e carbonato ($920 \text{ cm}^{-1} - 820 \text{ cm}^{-1}$). Após correção da linha de base e normalização pela banda do fosfato, foram calculados os seguintes parâmetros: (1) razão mineral/matriz (M:M), dada pela razão entre as bandas em 1035 e 1655 cm^{-1} , atribuídas à vibração do íon fosfato e ao alongamento $\text{C}=\text{O}$ da amida I, respectivamente; (2) razão carbonato/mineral (C:M), dada pela relação das áreas integradas do carbonato a 872 cm^{-1} para o fosfato a 1035 cm^{-1} ; (3) razão amida I/amida III, indicada pela relação das áreas integradas da

amida I a 1655 cm^{-1} para a amida III a 1235 cm^{-1} ; (4) razão amida I/CH₂, representada pela relação das áreas integradas da amida I a 1655 cm^{-1} para o balanço do grupo CH₂ a 1450 cm^{-1} (Rodrigues et al., 2018; Miranda et al., 2019).

4.8. Espectroscopia Raman

Três amostras de cada grupo foram avaliadas pelo Espectrômetro LabRam HR Evolution Raman (Horiba LabRam, Villeneuve d'Ascq, França), localizado no Instituto de Física (INFIS) da UFU. O equipamento operou numa potência de excitação de 20 mW com radiação emitida por um laser He-Ne (785 nm). Os espectros Raman foram obtidos utilizando uma rede de 600 linhas/mm centrada no intervalo de 480 a 1800 cm^{-1} com uma abertura confocal de 400 μm . O objetivo foi analisar a zona de difusão dos cimentos resinosos e sua interação química com a dentina radicular. Como o pino de uma das metades foi totalmente desgastado durante o seccionamento das amostras, apenas metade de cada raiz estava disponível para análise na espectroscopia Raman (Ubal dini et al., 2018).

Os espectros foram obtidos na região cervical da raiz, mapeando a interface começando do cimento resinoso e movendo em intervalos de 1 μm em direção à dentina, utilizando uma amplificação de 100X controlado por um estágio x-y-z no computador (Ubal dini et al., 2018). Os espectros foram coletados ao longo de uma linha de 20 μm de comprimento. Cinco acumulações de 30 segundos foram usadas para as leituras dos espectros. A fim de evitar a desidratação das amostras, uma gaze embebida em água deionizada foi colocada sob as amostras durante a obtenção dos dados. O software OriginPro 2018 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA) foi utilizado para analisar os dados da espectroscopia Raman.

A zona de difusão dos cimentos (Figura 7) no interior da dentina foi avaliada pela banda com pico em 1113 cm^{-1} ($\nu\text{C-O-C}$), que é representativa da cadeia de carbono no monômero resinoso presente em ambos os cimentos testados. As interações químicas na interface foram investigadas através de picos característicos que representam o componente mineral da dentina (961 cm^{-1} - fosfato ν_1) e o grupamento de monômeros metacrilatos (1458 cm^{-1} - CH₂)

(Figura 7). A razão entre a intensidade desses picos ($961\text{ cm}^{-1}/1458\text{ cm}^{-1}$) foi calculada para cada ponto mapeado na interface (Ubalдини et al., 2018).

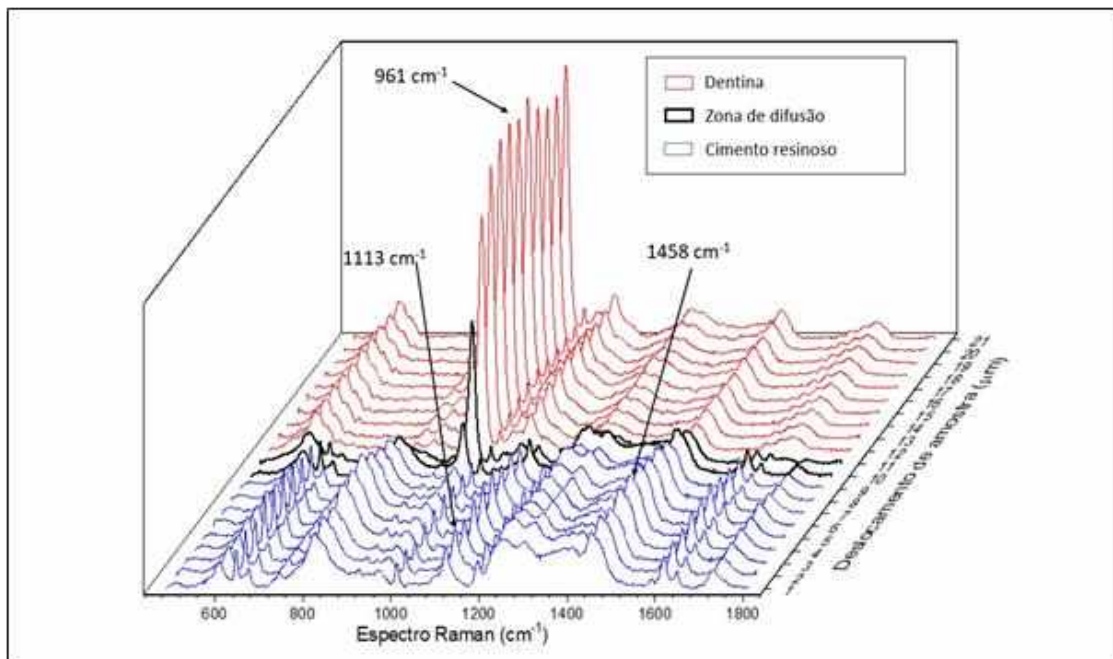


Figura 7: Espectro Raman representativo da interface adesiva (neste caso, cimento autoadesivo). Cada medida é representada por uma linha numerada no eixo z. As linhas azuis representam o cimento, as linhas pretas em negrito representam a zona de difusão e as linhas vermelhas representam a dentina.

4.9. Análise estatística

Os dados foram testados para distribuição normal (Shapiro-Wilk, $p > 0,05$) e igualdade de variância (Teste de Levene $p > 0,05$). Os dados obtidos na espectroscopia FTIR foram analisados utilizando ANOVA One-way com medidas repetidas (terços), seguido do teste de Tukey. Já os dados Raman foram submetidos ao teste ANOVA Two-way, seguido de Tukey ($\alpha = 0,05$). Todas as análises estatísticas foram feitas utilizando o pacote estatístico Sigma Plot (versão 12.0, Systat Software, Inc., San Jose, CA, EUA).

5.RESULTADOS

5.1. FTIR

As médias e os desvios-padrão dos parâmetros químicos obtidos na ATR/FTIR estão mostrados nas tabelas 1 e 2. Para amida I, ANOVA One-way com medidas repetidas mostrou diferença significativa para terço ($p < 0,001$), sendo que teste de Tukey mostrou valor mais alto para o terço apical em relação ao cervical dentro do grupo não irradiado. Para fosfato e amida III, houve diferença significativa apenas para irradiação ($p = 0,015$ e $0 = 0,038$, respectivamente). Teste de Tukey revelou diferença entre os grupos irradiado e não irradiado dentro do terço cervical para estes componentes químicos. Para CH_2 , houve diferença significativa para terço ($p = 0,017$) e teste de Tukey mostrou valor mais alto para o terço apical em relação ao médio dentro do grupo não irradiado. Para carbonato, houve diferença significativa apenas para irradiação ($p = 0,002$), sendo que teste de Tukey mostrou que os terços cervical e apical diferiram entre os grupos irradiado e não irradiado.

Na razão M:M, ANOVA One-way com medidas repetidas mostrou diferença significativa somente no grupo não irradiado para terço ($p < 0,001$), sem diferença estatística para a interação entre terço X irradiação ($p = 0,826$). Dentro do grupo não irradiado, teste de Tukey mostrou que o terço cervical apresentou valor mais alto da razão M:M quando comparado aos terços médio e apical (cervical X médio $p = 0,041$; cervical X apical $p = 0,001$). Para a razão C:M, houve diferença significativa para irradiação ($p = 0,001$), sendo que todos os terços na dentina irradiada apresentaram valores mais baixos da razão C:M se comparada à não irradiada. Já na razão amida I/amida III, não houve diferença significativa para nenhum dos fatores em estudo (irradiação $p = 0,291$; terço $p = 0,051$; interação $p = 0,068$). Para a razão amida I/ CH_2 , ANOVA mostrou diferença significativa apenas para terço ($p = 0,007$). Dentro do grupo não irradiado, teste de Tukey mostrou que o terço cervical apresentou valor mais baixo de amida I/ CH_2 quando comparado ao terço médio.

Tabela 1 - Médias e desvios-padrão das áreas integradas de cada componente analisado na ATR/FTIR.

	Amida I		Fosfato		Amida III		CH ₂		Carbonat o	
	NI	IR	NI	IR	NI	IR	NI	IR	NI	IR
Cervical	1,53 (0,32) Ba	1,63 (0,26) Aa	15,64 (0,41) Aa	16,15 (0,43) Ab	0,23 (0,05) Aa	0,19 (0,03) Ab	0,21 (0,03) ABa	0,22 (0,06) ABa	0,28 (0,04) Aa	0,23 (0,05) Ab
Médio	1,77 (0,17) ABa	1,75 (0,13) Aa	15,71 (0,10) Aa	15,92 (0,43) Aa	0,22 (0,04) Aa	0,20 (0,03) Aa	0,19 (0,03) Ba	0,19 (0,02) Ba	0,28 (0,03) Aa	0,24 (0,02) Aa
Apical	1,99 (0,27) Aa	1,83 (0,19) Aa	15,64 (0,25) Aa	15,68 (0,13) Aa	0,22 (0,03) Aa	0,21 (0,02) Aa	0,22 (0,02) Aa	0,22 (0,03) Aa	0,29 (0,04) Aa	0,25 (0,02) Ab

*NI: não irradiado; IR: irradiado.

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os terços (colunas) e letras minúsculas entre irradiação (linhas) ($p < 0,05$).

Tabela 2 - Médias e desvios-padrão das razões químicas analisadas na ATR/FTIR.

	Razão M:M		Razão C:M		Amida I / Amida III		Amida I / CH ₂	
	NI	IR	NI	IR	NI	IR	NI	IR
Cervical	10,60 (2,24) Aa	10,09 (2,04) Aa	0,018 (0,002) Aa	0,014 (0,43) Ab	6,96 (2,23) Aa	8,75 (1,96) Aa	7,30 (1,53) Ba	8,15 (2,68) Aa
Médio	8,95 (0,96) Ba	9,16 (0,81) Aa	0,018 (0,002) Aa	0,015 (0,002) Ab	8,28 (1,40) Aa	8,96 (0,91) Aa	9,58 (1,20) Aa	9,16 (1,25) Aa
Apical	8,01 (1,07) Ba	8,64 (0,89) Aa	(0,018) (0,003) Aa	0,016 (0,001) Ab	9,32 (1,46) Aa	8,80 (1,36) Aa	8,96 (1,26) ABa	8,60 (1,63) Aa

*NI: não irradiado; IR: irradiado.

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os terços (colunas) e letras minúsculas entre irradiação (linhas) ($p < 0,05$)

5.2. Espectroscopia Raman

As médias e os desvios-padrão para a razão 961/1458 cm^{-1} são mostradas na Tabela 3. ANOVA Two-way mostrou que a irradiação ($p=0,818$), o tipo de cimento resinoso ($p=0,381$) ou a interação entre eles ($p=0,273$) não tiveram influência na razão 961/1458 cm^{-1} . A Figura 8 mostra as médias e os valores máximos e mínimos da zona de difusão nas amostras analisadas. Analisando a amplitude em cada amostra, observou-se um comportamento heterogêneo entre os valores máximos e mínimos nos diferentes grupos experimentais.

Tabela 3 - Médias e desvios-padrão da razão 961/1458 cm^{-1} obtidos na zona de difusão pela espectroscopia Raman.

	Cimento convencional	Cimento autoadesivo
NI	2,60 (0,18) Aa	2,69 (0,21) Aa
IR	3,12 (1,11) Aa	2,34 (0,60) Aa

***NI: não irradiado; IR: irradiado**

Diferentes letras maiúsculas (análise em colunas) e minúsculas (análise em linhas) representam diferença estatística entre os grupos ($p<0,05$).

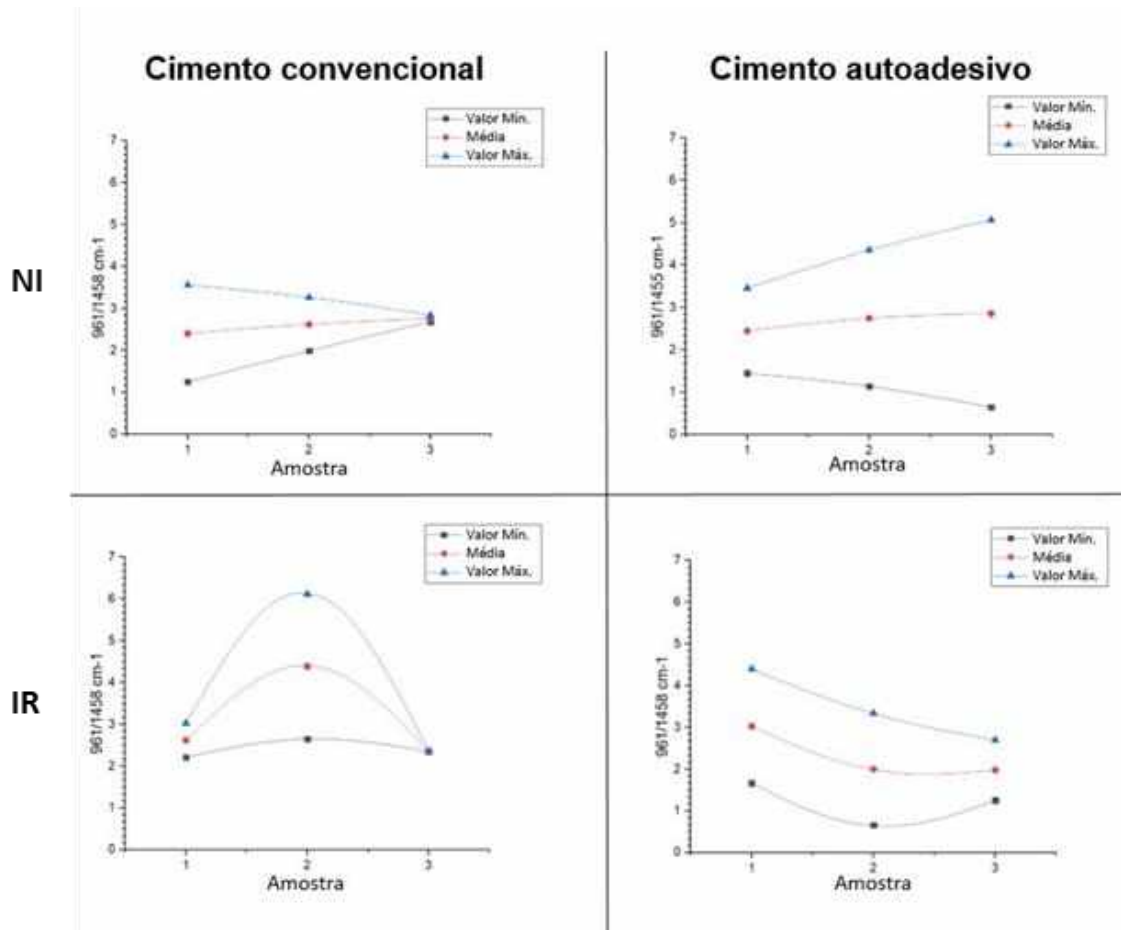


Figura 8: Médias, valores máximos e mínimos da zona de difusão de cada amostra avaliada nos diferentes grupos experimentais.

6. DISCUSSÃO

As duas hipóteses nulas foram rejeitadas, visto que a radiação ionizante alterou a composição química das moléculas na dentina radicular (principalmente no terço cervical) e mudou o padrão de interação dos cimentos resinosos com a dentina, conforme observado nos valores de amplitude obtidos na espectroscopia Raman. Portanto, os cirurgiões-dentistas devem estar atentos às dificuldades no tratamento destes pacientes submetidos à radioterapia e em suas implicações na reabilitação oral a fim de obter um resultado mais previsível durante o tratamento (Fromm et al., 2019).

A primeira hipótese nula foi rejeitada provavelmente devido à interação da radiação ionizante com os tecidos dentais por meio de excitação de moléculas,

liberando radicais livres como por exemplo íons oxigênio (O^{2-}), hidroxila (OH^-), hidrogênio (H^+) que se ligam a outras moléculas e se reorganizam, alterando os componentes químicos da dentina e mudando a conformação das moléculas (Seredin et al., 2015). Portanto, a energia ionizante liberada pela radioterapia pode causar uma reorganização molecular nos tecidos dentais duros (Velo et al., 2018).

Os resultados do presente estudo mostraram valores mais altos de íons fosfato no terço cervical do grupo irradiado quando comparado ao não irradiado. Por outro lado, íons carbonato tiveram valores mais baixos nos terços cervical e apical da dentina irradiada, o que refletiu em mudanças na razão C:M. O terço cervical da raiz é a área mais afetada pela radiação ionizante provavelmente por ser uma área mais exposta ao ambiente oral e menos protegida pelo osso alveolar e tecidos gengivais (Gupta et al., 2015). Essa alteração causada pela radiação pode levar a um desequilíbrio nos íons fosfato e carbonato, principalmente no terço cervical, facilitando a troca de íons com a saliva (Gonçalves et al., 2014). A diminuição dos íons carbonato torna o tecido mais susceptível aos ácidos, causando desequilíbrio, degradação e acelerando o processo de dissolução da estrutura dentária (Tartari et al., 2016; Campi et al., 2019; Miranda et al., 2019). Essas mudanças na composição do substrato podem interferir no padrão de interação com materiais resinosos, especialmente durante o processo de cimentação de pinos de fibra de vidro (Yamin et al., 2018).

A amida I é a principal banda de absorção nas proteínas e é bastante importante na organização da estrutura proteica. Isso é determinado pela conformação do esqueleto e pelo padrão de ligação do hidrogênio na estrutura (Xu e Wang, 2012). O motivo para valores mais baixos de amida I encontrados no terço cervical comparado ao apical deve-se ao fato de que no terço cervical há uma densidade maior de túbulos dentinários com maior presença de dentina peritubular, que é mais mineralizada que a dentina intertubular. A dentina intertubular tem uma maior quantidade de matriz orgânica se comparada a dentina tubular (Schellenberg et al., 1992; Xu e Wang, 2012). Para a razão M:M, houve diferenças entre o terço cervical e os terços médio e apical no grupo não irradiado, justificado pela maior quantidade de matriz mineral em relação aos componentes orgânicos no terço cervical da raiz.

Em relação à amida III, houve diferenças entre os grupos irradiado e não irradiado, fato que pode ser explicado pela grande instabilidade molecular da amida III quando submetida à radiação ionizante. A amida III é uma proteína que participa na formação de fibras colágenas e age na conformação entre componentes orgânicos e minerais. A desorganização da amida III resulta em uma maior solubilidade e menor resistência radicular (Campi et al., 2019). A razão amida I/amida III representa a organização do colágeno no interior da dentina (Salehi et al., 2013). Os valores dessa razão foram semelhantes nos grupos irradiado e não irradiado, provavelmente porque os dentes estavam fixados em cera utilidade na altura da junção amelocementária e cobertos por saliva artificial durante o processo de irradiação, dificultando a exposição direta das raízes à radiação ionizante. Este modelo foi utilizado para simular o que ocorre clinicamente em pacientes submetidos à radioterapia de cabeça e pescoço, onde o elemento dentário é protegido por tecidos periodontais e está em constante contato com saliva (Campi et al., 2019).

A qualidade do colágeno é representada pela razão amida I/CH₂ (Salehi et al., 2013; Toledano et al., 2015). No presente estudo, não houve diferença entre os grupos irradiado e não irradiado nessa razão. Entretanto, dentro do grupo não irradiado, os valores dela diferiram entre os terços cervical e médio. A variação na densidade tubular e permeabilidade da dentina entre os terços podem explicar este fato. CH₂ representa a intensidade das vibrações da cadeia lateral na conformação molecular do polipeptídeo. Em relação aos valores de CH₂, também não houve diferença entre os grupos irradiado e não irradiado, porém detectou-se uma diferença entre os terços apical e médio em ambos os grupos. Isto sugere uma maior concentração de colágeno devido à maior quantidade de dentina intertubular no terço apical da raiz (Schellenberg et al., 1992; Xu, Wang, 2012). Assim, a radiação ionizante não influenciou tanto na organização e qualidade do colágeno, interferindo mais na matriz mineral da dentina radicular.

A interface entre cimento e dentina foi avaliada pela espectroscopia Raman, comparando cimentos convencionais e autoadesivos e sua interação com a dentina radicular irradiada e não irradiada. O conhecimento sobre a interação de materiais resinosos com a dentina irradiada é de importância primordial para a tomada de decisão do cirurgião-dentista durante a reabilitação

oral (Yamin et al., 2018). A razão $961/1458\text{ cm}^{-1}$ obtida na espectroscopia Raman avalia a relação do grupo fosfato da dentina com o monômero metacrilato do cimento resinoso. Essa razão analisa a qualidade da interação do cimento com a dentina radicular (Ubalini et al., 2018). O presente estudo não encontrou diferenças na razão $961/1458\text{ cm}^{-1}$ entre os grupos irradiado e não irradiado e entre os dois tipos de cimentos resinosos testados. No entanto, também foi avaliada a amplitude com base nos valores máximos e mínimos da zona de difusão nas amostras e, dessa forma, foi possível observar uma heterogeneidade do cimento convencional na dentina irradiada. Isto pode ser explicado pela sensibilidade técnica do cimento convencional que precisa de condicionamento ácido prévio, para expor as fibras colágenas e solventes redutores de umidade associados aos adesivos, para impregnar nas fibras colágenas e dentro dos túbulos dentinários formando a camada híbrida (Amaral et al., 2011; Farina et al., 2016; Rodrigues et al., 2017), tudo isso somado à uma dentina alterada pela radiação ionizante.

Cimentos resinosos convencionais têm boa performance clínica, entretanto são mais sensíveis à técnica por conta do maior número de passos se comparados aos cimentos autoadesivos (Farina et al., 2016). Assim, há maior chance de erros durante o procedimento como excesso de condicionamento ácido e remoção excessiva da umidade da dentina, o que leva à desidratação e, por consequência, ao colapamento das fibrilas colágenas, impedindo uma interação eficiente entre o adesivo e o substrato (Rodrigues et al., 2017). A polimerização do cimento resinoso convencional principalmente em regiões distantes da fonte de luz do fotopolimerizador, como nos terços médio e apical do canal radicular, reduz a eficiência do cimento (Farina et al., 2016; Rodrigues et al., 2017). Já o cimento resinoso autoadesivo tem monômeros ácidos multifuncionais e um mecanismo de ligação com a hidroxiapatita dentária, tornando o uso deste cimento mais fácil por ter apenas um passo (Amaral et al., 2011).

Em relação às metodologias utilizadas, espectroscopias são bastante efetivas na determinação molecular dos componentes químicos presentes nas estruturas. A espectroscopia FTIR mede a excitação da luz infravermelha, comprimento de onda e intensidade da absorção de luz de qualquer estrutura analisada (Rodrigues et al., 2018). Utilizando um software, um gráfico com o

respectivo espectro é obtido e as frequências dos diversos modos de vibração das moléculas orgânicas e inorgânicas são identificadas. ATR (reflexão total atenuada) é uma forma de espectroscopia de reflexão interna, em que uma amostra é colocada em contato com um índice de refração bem elevado, como um cristal de diamante por exemplo (Lopes et al., 2018). Já a espectroscopia Raman se utiliza de níveis de energia vibracional, guiadas por processos de dispersão da luz que conseguem alcançar uma maior profundidade de leitura, uma vez que depende dos fenômenos de dispersão e reflexão da luz. Assim, no presente estudo pode-se estimar a zona de difusão dos cimentos resinosos e sua interação química com a dentina (Ubal dini et al., 2019). Em ambas espectroscopias as amostras mantêm suas condições originais, podendo ser utilizadas novamente em outras análises (Miranda et al., 2019).

As alterações químicas na dentina radicular irradiada indicam que estudos mais aprofundados avaliando adesão nesse substrato devem ser feitos, com o intuito de estabelecer planos de tratamento reabilitadores mais seguros aos pacientes submetidos à radioterapia na região de cabeça e pescoço. Estudos clínicos avaliando o comportamento da cimentação sob influência do ambiente oral e de outras variáveis também se fazem necessários para a definição de protocolos de cimentação de pinos de fibra de vidro nesses pacientes.

7. CONCLUSÃO

A radiação ionizante alterou a composição química das moléculas na dentina radicular, principalmente no terço cervical. O cimento convencional e o autoadesivo não apresentaram diferenças na zona de difusão do cimento no interior da dentina radicular.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aggarwal V. An in vitro evaluation of effect of ionizing radiotherapy on push-out strength of fiber posts under cyclic loading. **J Endod.** 2009;35(5):695-8.

2. Amaral M, Rippe MP, Bergoli CD, Monaco C, Valandro LF. Multi-step adhesive cementation versus one-step adhesive cementation: push-out bond strength between fiber post and root dentin before and after mechanical cycling. **Gen Dent.** 2011;59(5):e185-91.
3. Aro K, Bäck L, Mäkitie A, Tapiovaara L. An evaluation of the diagnostic methods in head and neck cancer of unknown primary site. **Acta Otolaryngol.** 2018;138(10):930-6.
4. Bhandari S, Soni BW, Bahl A, Ghoshal S. Radiotherapy-induced oral morbidities in head and neck cancer patients. **Spec Care Dentist.** 2020;40(3):238-250.
5. Borumandi F, Cascarini L. Robotics in oral and maxillofacial surgery. **Ann R Coll Surg Engl.** 2018;100(6_sup):19-22.
6. Campi LB, Lopes FC, Soares LES, de Queiroz AM, de Oliveira HF, Saquy PC, et al. Effect of radiotherapy on the chemical composition of root dentin. **Head Neck.** 2019;41(1):162-9.
7. Comelli A, Stefano A, Russo G, Sabini MG, Ippolito M, Bignardi S, et al. A smart and operator independent system to delineate tumours in Positron Emission Tomography scans. **Comp Biology Med.** 2018;102:1-15.
8. Farina AP, Chiela H, Carlini-Junior B, Mesquita MF, Miyagaki DC, Randi Ferraz CC, et al. Influence of cement type and relining procedure on push-out bond strength of fiber posts after cyclic loading. **J Prosthodont.** 2016;25(1):54-60.
9. Fromm L, Gotfredsen K, Wessel I, Øzhayat EB. Oral health-related quality of life, oral aesthetics and oral function in head and neck cancer patients after oral rehabilitation. **J Oral Rehabil.** 2019;46(8):738-46.
10. Gonçalves LMN, Palma-Dibb RG, Paula-Silva FWG, de Oliveira HF, Nelson-Filho P, da Silva LAB, et al. Radiation therapy alters microhardness and microstructure of enamel and dentin of permanent human teeth. **J Dent.** 2014;42(8):986-92.
11. Gupta N, Pal M, Rawat S, Grewal MS, Garg H, Chauhan D, et al. Radiation-induced dental caries, prevention and treatment-A systematic review. **Natl J Maxillofac Surg.** 2015;6(2):160.

12. Jawad H, Hodson NA, Nixon P. A review of dental treatment of head and neck cancer patients, before, during and after radiotherapy: part 1. **Br Dent J**. 2015;218(2):65-8.
13. Kim JK, Leeman JE, Riaz N, McBride S, Tsai CJ, Lee NY. Proton therapy for head and neck cancer. **Curr Treat Options Oncol**. 2018;19(6):28.
14. Lopes CdCA, Limirio PHJO, Novais VR, Dechichi P. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) application chemical characterization of enamel, dentin and bone. **Appl Spectrosc Rev**. 2018;53(9):747-69.
15. Martins C, Leoni G, Oliveira HFd, Arid J, Queiroz AMd, Silva LABd, et al. Influence of therapeutic cancer radiation on the bond strength of an epoxy-or an MTA-based sealer to root dentine. **Int Endod J**. 2016;49(11):1065-72.
16. Miranda RR, Silva ACA, Dantas NO, Soares CJ, Novais VR. Chemical analysis of in vivo–irradiated dentine of head and neck cancer patients by ATR-FTIR and Raman spectroscopy. **Clin Oral Investig**. 2019;23(8):3351-8.
17. Naves LZ, Novais VR, Armstrong SR, Correr-Sobrinho L, Soares CJ. Effect of gamma radiation on bonding to human enamel and dentin. **Support Care Cancer**. 2012;20(11):2873-8.
18. Novais VR, Rodrigues RB, Simamoto Júnior PC, Lourenço C-S, Soares CJ. Correlation between the mechanical properties and structural characteristics of different fiber posts systems. **Braz Dent J**. 2016;27(1):46-51.
19. Rodrigues RB, Soares CJ, Junior PCS, Lara VC, Arana-Chavez VE, Novais VR. Influence of radiotherapy on the dentin properties and bond strength. **Clin Oral Investig**. 2018;22(2):875-83.
20. Rodrigues RV, Sampaio CS, Pacheco RR, Pascon FM, Puppin-Rontani RM, Giannini M. Influence of adhesive cementation systems on the bond strength of relined fiber posts to root dentin. **J Prosthet Dent**. 2017;118(4):493-9.
21. Salehi H, Terrer E, Panayotov I, Levallois B, Jacquot B, Tassery H, et al. Functional mapping of human sound and carious enamel and dentin with Raman spectroscopy. **J Biophotonics**. 2013;6(10):765-74.

22. Santos-Filho PCF, Veríssimo C, Soares PV, Saltarelo RC, Soares CJ, Martins LRM. Influence of ferrule, post system, and length on biomechanical behavior of endodontically treated anterior teeth. **J Endod**. 2014;40(1):119-23.
23. Schellenberg U, Krey G, Bosshardt D, Nair PR. Numerical density of dentinal tubules at the pulpal wall of human permanent premolars and third molars. **J Endod**. 1992;18(3):104-9.
24. Schutte HW, Heutink F, Wellenstein DJ, van den Broek GB, van den Hoogen FJA, Marres HAM, et al. Impact of Time to Diagnosis and Treatment in Head and Neck Cancer: A Systematic Review. **Otolaryngol Head Neck Surg**. 2020;162(4):446-457.
25. Seredin P, Goloshchapov D, Prutskij T, Ippolitov Y. Phase transformations in a human tooth tissue at the initial stage of caries. **PLoS One**. 2015;10(4).
26. da Silva NR, Rodrigues MdP, Bicalho AA, Soares PB, Price RB, Soares CJ. Effect of Resin Cement Mixing and Insertion Method into the Root Canal on Cement Porosity and Fiberglass Post Bond Strength. **J Adhes Dent**. 2019;21(1):37-46.
27. Soares C, Roscoe M, Castro C, Santana F, Raposo L, Quagliatto P, et al. Effect of gamma irradiation and restorative material on the biomechanical behaviour of root filled premolars. **Int Endod J**. 2011;44(11):1047-54.
28. Soares CJ, Rodrigues MdP, Faria-e-Silva AL, Santos-Filho PCF, Veríssimo C, Kim H-C, et al. How biomechanics can affect the endodontic treated teeth and their restorative procedures? **Braz Oral Res**. 2018;32.
29. Tartari T, Bachmann L, Maliza AGA, Andrade FB, Duarte MAH, Bramante CM. Tissue dissolution and modifications in dentin composition by different sodium hypochlorite concentrations. **J Appl Oral Sci**. 2016;24(3):291-8.
30. Toledano M, Aguilera FS, Osorio E, Cabello I, Toledano-Osorio M, Osorio R. Functional and molecular structural analysis of dentine interfaces promoted by a Zn-doped self-etching adhesive and an in vitro load cycling model. **J Mech Behav Biomed Mater**. 2015;50:131-49.
31. Tolentino EdS, Centurion BS, Ferreira LHC, Souza APd, Damante JH, Rubira-Bullen IRF. Oral adverse effects of head and neck radiotherapy: literature

review and suggestion of a clinical oral care guideline for irradiated patients. **J Appl Oral Sci.** 2011;19(5):448-54.

32. Ubaldini ALM, Benetti AR, Sato F, Pascotto RC, Neto AM, Baesso ML, et al. Challenges in luting fibre posts: adhesion to the post and to the dentine. **Dent Mater.** 2018;34(7):1054-62.

33. Valdivia ADCM, Novais VR, Menezes MdS, Roscoe MG, Estrela C, Soares CJ. Effect of surface treatment of fiberglass posts on bond strength to root dentin. **Braz Dent J.** 2014;25(4):314-20.

34. Velo MMdAC, Farha ALH, da Silva Santos PS, Shiota A, Sansavino SZ, Souza AT, et al. Radiotherapy alters the composition, structural and mechanical properties of root dentin in vitro. **Clin Oral Investig.** 2018;22(8):2871-8.

35. Wang X, Shu X, Zhang Y, Yang B, Jian Y, Zhao K. Evaluation of fiber posts vs metal posts for restoring severely damaged endodontically treated teeth: a systematic review and meta-analysis. **Quintessence Int.** 2019;50(1):8-20.

36. Xu C, Wang Y. Chemical composition and structure of peritubular and intertubular human dentine revisited. **Arch Oral Biol.** 2012;57(4):383-91.

37. Yamin P, Pereira R, Lopes F, Queiroz A, Oliveira H, Saquy P, et al. Longevity of bond strength of resin cements to root dentine after radiation therapy. **Int Endod J.** 2018;51(11):1301-12.