



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**



THALLES EDUARDO RIBEIRO

**EFEITO DA RADIAÇÃO IONIZANTE E DO
FRACIONAMENTO DA DOSE NA
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ESMALTE**

UBERLÂNDIA

2019

THALLES EDUARDO RIBEIRO

**EFEITO DA RADIAÇÃO IONIZANTE E DO
FRACIONAMENTO DA DOSE COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DO ESMALTE**

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 Simamoto

Coorientador Me. Rafael Resende de
Miranda

UBERLÂNDIA

2019

AGRADECIMENTOS

Sempre que sou questionado o porquê de ter escolhido Odontologia insisto em dizer que foi uma das peças que a vida prega na gente. E que peça maravilhosa! Peça no sinônimo de espetáculo. Os últimos 5 anos foram um grande show que agora chega ao final, com o fechar das cortinas e o apagar das luzes, com sussuros de bis.

Agradeço aos meus pais, Selmo Eduardo e Simone Luciana, por sempre estarem na minha plateia, incentivando e me proporcionando estar onde estou. Me espelho em vocês como fontes de exemplo de superação e resiliência. Essa vitória é nossa.

Agradeço a minha irmã pelo companheirismo e sentimento mais puro de irmandade. Por ter sido o meu apoio familiar distante de casa nesse último ano em meio ao caos e momentos de felicidade.

Agradeço às minhas avós, Belmira e Sebastiana, pela paciência e entender que a minha ausência tinha um propósito e que, hoje estamos mais pertos do que nunca. A minha avó Belmira por ter me ajudado na compra do primeiro kit acadêmico. Levarei comigo o sentimento de gratidão por todos os anos de profissão que ainda irei experimentar.

Aos amigos que carrego comigo mesmo antes do início do meu curso.

A faculdade, mesmo sendo um ambiente estressante, traz consigo frutos doces e que tenho a intenção de cultivar por longos anos. As amizades que consegui fazer foram importantes nos momentos de frustração, no momento difícil dessa jornada. Tenho comigo que a companhia de pessoas boas deixou tudo mais leve. Agradeço aos meus amigos com quem dividi o fardo de ser da Comissão de Formatura: Anahi de Paula, Danilo Ferraz, Lorena Mendes e Rafael Caixeta. Além disso, agradeço também aos meus queridos amigos Ana Flávia Alves, Ana Carolina Stival, Andressa Moraes, Isadora Miranda, Mirian Martins, Beathriz Cristine, Caroline Rodrigues, Jéssica Damasceno, Rafael Vaz, Tatiana Pêcego e aos amigos que fiz de outras turmas.

Em especial, gostaria de agradecer a duas pessoas que foram extremamente importantes no meu caminho, estando mais próximas e sempre presentes quando precisei. Amizades essas que extrapolaram os boxes da

Faculdade de Odontologia e foram além. Allyne, agradeço por toda a paciência como dupla de clínica e amiga, mesmo com personalidades diferentes, nos completamos num sentimento verdadeiro de amizade. Kássia, agradeço pela companherismo e cumplicade nos últimos anos. Quero levar ambas por onde for!

Aos mestres, agradeço pela disposição em ensinar. O dom da docência é dado àqueles que realmente sentem prazer em ensinar muito mais que técnicas e protocolos, mas como ser humano em meio a esse mundo com todas as suas exigências sobre nós. Agradeço aos professores Adriano Loyola, Alessandra Maia, Maria Antonieta, Camilla Cristhian e, em especial, a minha orientadora professora Veridiana Resende Novais pela disposição e toda orientação. Não posso esquecer de um amigo, (e coorientador), Rafael Resende, que fiz durante as rotinas de laboratório e experimentos, agradecendo toda a paciência e aprendizados repassados quando precisei. Levarei comigo todos os anos de amizade e parceria.

Além disso, deixo aqui expresso o sentimento de gratidão pelo grupo Programa de Educação Tutorial – PET Odontologia – por ter sido parte da minha experiência acadêmica durante 2 anos e meio. Vocês foram e sempre serão a minha melhor escolha dentre todas as que fiz na Universidade. Dentro deste grupo, cresci como ser humano e profissional. Vocês são o que há de melhor dentro da Faculdade de Odontologia. Também não posso me esquecer da Liga de Odontopediatria – LiOP UFU – pela carga de conhecimento a qual tive oportunidade em adquirir e nas amizades que realizei durante o meu tempo nessa projeto.

A minha turma, 81ª turma de Odontologia, deixo o meu agradecimento especial. Juntos iniciamos essa caminhada, ao longo do percurso alguns foram ficando e, com toda a nossa bagagem, chegamos ao final de mais um ciclo. Espero que sejamos felizes na profissão que escolhemos e possamos fazer a diferença no lugar em que cada um escolher para abaixar a sua âncora. Obrigado por essa experiência, 81 do amor.

Por fim, mas não menos importante, agradeço a Deus pelo dom da vida e por me permitir chegar até aqui. Por toda a luz e bençãos que, com certeza, me foram concedidas.

SUMÁRIO

Resumo	06
Abstract	07
Introdução	08
Revisão de Literatura	09
Objetivo	22
Delineamento Experimental	22
Material e Métodos	23
Resultados	28
Discussão	31
Conclusão	33
Referências	35

1. RESUMO

Neoplasias malignas podem ser tratadas utilizando várias terapêuticas, dentre elas a radioterapia (RT), que se baseia na incidência de raios ionizantes sobre o DNA das células tumorais a fim de destruí-las. Entretanto, apesar de benéfico no tratamento antineoplásico, a RT na região de cabeça e pescoço pode causar efeitos deletérios às estruturas saudáveis dessa região. Vários estudos tem investigado o efeito da RT sobre as estruturas dentais e os danos gerados na cavidade oral. Para isso, a simulação da radioterapia *in vitro* se torna necessária. No entanto, a dúvida a respeito do protocolo aplicado seria a dosagem de Gy em forma única ou de forma a simular o que se faz clinicamente, ou seja, doses fracionadas diárias. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as propriedades químicas do esmalte dental submetido a diferentes protocolos de radiação *in vitro*. Para isso, 56 terceiros molares foram coletados e divididos em sete grupos (n=8): não irradiado/controle; irradiado em dose única de 30 Gy; irradiado em dose única de 50 Gy; irradiado em dose única de 70 Gy; irradiado em doses fracionadas até o total de 30 Gy; irradiado em doses fracionadas até o total de 50 Gy; irradiado em doses fracionadas até o total de 70 Gy. Em cada grupo, a composição química foi avaliada por meio de Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR), pela técnica de Reflexão Total Atenuada (ATR). Foram analisados a razão matriz orgânica/matriz mineral (M:M) e o conteúdo relativo de carbonato (CRC). Para a razão M:M, One-way ANOVA revelou diferença significativa entre os grupos ($p < 0,001$), sendo que o teste de Dunnett detectou diferença entre os grupos controle e irradiado em dose única de 70 Gy ($p = 0,0034$) e entre o controle e o irradiado em doses fracionadas até o total de 70 Gy ($p = 0,039$). Excluindo-se o grupo controle, Two-way ANOVA constatou diferença estatística para fracionamento ($p = 0,002$) e para interação fracionamento X dose ($p < 0,001$), dentro da razão M:M. Para o CRC, One-way ANOVA não detectou diferença estatística entre os grupos ($p = 0,063$) e, excluindo-se o grupo controle, Two-way ANOVA também não revelou diferença para os fatores dose ($p = 0,246$) e fracionamento ($p = 0,082$) e nem para a interação entre eles ($p = 0,075$). Dessa forma, conclui-se que as doses de 70 Gy alteraram a composição química do esmalte dental humano, independentemente do fracionamento ou não da dose. A radiação ionizante teve efeito maior sobre a razão M:M, alterando o conteúdo orgânico das amostras e não produzindo alterações no CRC.

Palavras-chave: Esmalte Dentário; Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier; Radioterapia.

2. ABSTRACT

Malignant neoplasms can be treated using various therapies, including radiotherapy (RT), which is based on the incidence of ionizing rays on tumor cell DNA in order to destroy them. However, although beneficial in antineoplastic treatment, RT in the head and neck region can have deleterious effects on healthy structures in this region. Several studies have investigated the effect of RT on dental structures and damage to the oral cavity. For this, the simulation of in vitro radiotherapy becomes necessary. However, the doubt about the applied protocol would be the dosage of Gy in a single form or in order to simulate what is done clinically, ie fractional daily doses. Therefore, the objective of this work was to evaluate the chemical properties of dental enamel submitted to different in vitro radiation protocols. For this, 56 third molars were collected and divided into seven groups (n=8): non-irradiated / control; irradiated in a single 30 Gy dose; irradiated in a single dose of 50 Gy; irradiated in a single dose of 70 Gy; irradiated in fractional doses up to a total of 30 Gy; irradiated in fractional doses up to a total of 50 Gy; irradiated in fractional doses up to a total of 70 Gy. In each group, the chemical composition was evaluated by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), by the Attenuated Total Reflection (ATR) technique. The organic matrix/mineral matrix ratio (M:M) and the relative carbonate content (CRC) were analyzed. For the M:M ratio, One-way ANOVA revealed a significant difference between the groups ($p<0.001$), and the Dunnett test detected a difference between the control and single-dose irradiated groups of 70 Gy ($p=0.0034$) and between control and irradiated at fractional doses up to a total of 70 Gy ($p=0.039$). Excluding the control group, Two-way ANOVA found statistical difference for fractionation ($p=0.002$) and for fractionation X dose interaction ($p<0.001$), within the M: M ratio. For CRC, One-way ANOVA did not detect statistical difference between the groups ($p=0.063$) and, excluding the control group, Two-way ANOVA also did not reveal difference for dose ($p=0.246$) and fractionation ($p=0.082$) nor for their interaction ($p=0.075$). Thus, it can be concluded that the doses of 70 Gy altered the chemical composition of human dental enamel, regardless of the fractionation or not of the dose. Ionizing radiation had a greater effect on the M:M ratio, changing the organic content of the samples and not producing changes in CRC.

Key-Words: Enamel, Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Radiotherapy

3. INTRODUÇÃO

O número de casos de câncer tem aumentado de forma considerável em todo o mundo, configurando-se na atualidade como um dos mais importantes problemas de saúde pública (Roy e Saiekia, 2016). Aproximadamente 14 milhões de novos casos de câncer são detectados por ano mundialmente. No Brasil, a estimativa é de 600 mil novos casos por ano no biênio 2018/2019 (INCA, 2017). Dentre os tipos existentes, as neoplasias de cabeça e pescoço ocupam o sexto lugar em número de incidência (Kumar et al., 2016).

As modalidades de tratamento antineoplásico mais utilizadas são radioterapia, quimioterapia e cirurgia (Jawad et al., 2015). Apesar de pouco invasivo e altamente eficaz, a radiação ionizante possui efeitos deletérios aos tecidos saudáveis circundantes ao tumor, isso porque as estruturas presentes no complexo crânio-cervical são altamente radio sensíveis (Kielbassa et al., 2006). Assim, o paciente diagnosticado com neoplasia maligna na região de cabeça e pescoço lidará com sequelas que afetarão suas capacidades de interação social e habilidades vitais como comer, beber e respirar (Jawad et al., 2015). Os efeitos adversos da radioterapia na cavidade oral compreendem mucosite, dor intensa, disfagia, disgeusia, candidíase, trismo, xerostomia, osteorradionecrose e cárie relacionada a radiação (Jawad et al., 2015; Carneiro-Neto et al., 2017; Villa e Akintoye, 2018).

A dose de radiação possui uma unidade internacional para mensuração chamada Gray (Gy), que expressa a dose de radiação que o material ou tecido humano irá absorver. A maior parte dos planos de tratamento para pacientes oncológicos consiste em doses variando entre 50 e 70 Gy, fracionadas em doses de 1,8 a 2 Gy diários, 5 dias na semana, num período entre 5 e 7 semanas (Freitas et al., 2011; Qing et al., 2016). Contudo, metodologicamente não existe uma padronização no modelo de radiação *in vitro* de amostras dentais para realização de pesquisas. Alguns estudos aplicam a radiação ionizante de forma fracionada, simulando a forma que é aplicada nos pacientes oncológicos clinicamente, enquanto outros aplicam a radiação total em uma única dose (Cunha et al., 2016; Cunha et al., 2017; Rodrigues et al., 2018; Miranda et al., 2018).

Essas diferenças no processo de irradiação resultam em achados conflituosos na literatura. Trabalho utilizando dosagem única não encontrou diferenças na resistência de união de sistemas adesivos aos substratos dentários (Cunha et al., 2016) e na micromorfologia de dentes irradiados (Cunha et al., 2017), ao mesmo tempo que outros estudos usando doses fracionadas encontraram alterações químicas e mecânicas no esmalte e na dentina (Gonçalves et al., 2014; Qing et al., 2015; Reed et al., 2015; Novais et al., 2016; Qing et al., 2016; Rodrigues et al., 2018; Miranda et al., 2018; Campi et al., 2019; Lu et al., 2019). Focando no esmalte, a radiação ionizante causa alterações na sua composição química, na microdureza, no módulo de elasticidade e no padrão de desgaste desse tecido, tornando-o mais suscetível à cárie (Qing et al., 2015; Reed et al., 2015; Lopes et al., 2018; Seyedmahmoued et al., 2018).

Desse modo, não há respostas homogêneas a respeito dos danos diretos nos dentes causados pela radiação ionizante em estudos experimentais, uma vez que alguns estudos aplicam a dose total de radiação de uma única vez, enquanto outras pesquisas usam a dose total aplicada de maneira fracionada, simulando o modo como se faz na prática clínica. Portanto, simular estas variações das técnicas e dosagens faz-se necessário para compreender a que nível as alterações ocorrem nos tecidos dentais frente à radioterapia. A hipótese nula é que diferentes doses e protocolos de radiação não produzem alterações na composição química do esmalte.

4. REVISÃO DE LITERATURA

Soares et al., 2010, estudaram a influência da irradiação gama sobre a resistência à tração do esmalte e da dentina, em relação à orientação dos prismas, dos túbulos dentinários e da sua localização. Quarenta terceiros molares humanos hígidos foram divididos em dois grupos (n=20): não irradiado e irradiado. O grupo irradiado recebeu dose total de 60 Gy, sendo exposto diariamente a 2 Gy até atingir o total. Restaurações de resina composta foram realizadas na superfície oclusal e, em seguida, as coroas e as raízes foram seccionadas no sentido vertical na direção vestibulo-lingual a fim de obter fatias de 1,0 mm. Foram obtidas fatias com corte paralelo ao posicionamento dos

primas, transversal à orientação dos primas, transversal à orientação dos túbulos dentinários na dentina coronária, paralela à orientação dos túbulos na dentina coronária, paralela à orientação dos túbulos na dentina radicular e transversal a dentina coronária. As amostras foram submetidas ao teste de tração a 0,5 mm/min até que ocorresse a fratura e analisadas em microscopia eletrônica de varredura. A análise estatística foi realizada com teste Two-way ANOVA. A radiação ionizante diminuiu significativamente os valores de resistência à tração na dentina coronária e radicular e no esmalte. Com ou sem irradiação, o esmalte foi significativamente mais resistente quando testado paralelamente à sua orientação prismática. Com relação a dentina coronária e radicular das amostras não irradiadas, verificou-se maiores valores de resistência à tração com testes perpendiculares à orientação dos túbulos. Entretanto, com a exposição à radiação ionizante, a influência da orientação dos túbulos dentinários foi indiferente, demonstrando que a irradiação é mais danosa aos componentes orgânicos do que aos inorgânicos.

Em 2011, Soares et al. pesquisaram a influência do uso de clorexidina e colutório com flúor sobre as propriedades mecânicas dos tecidos dentários submetidos à radiação gama. Foram coletados 120 terceiros molares humanos hígidos e, dessa forma, divididos em dois grupos (n=60): irradiado e não irradiado. Após isso, cada grupo foi subdividido em três subgrupos (n=20), de acordo com a solução a ser imersa durante a radiação: colutório com 0,05% de fluoreto de sódio, enxaguante bucal com clorexidina a 0,12% e grupo controle não imerso em nenhuma solução. Os dentes receberam doses de 60 Gy, fracionadas em 2 Gy diários, 5 dias por semana, totalizando 6 semanas. Os dentes foram restaurados e seccionados para obter-se 6 fatias de 1,0 mm para cada porção da coroa e da raiz. Para o teste de microtração, foi utilizada uma velocidade de 0,5mm/min até que ocorresse a fratura. Após teste Two-way ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$), observou-se que a radiação reduziu significativamente a resistência à tração do esmalte e da dentina coronária e radicular. Com relação as soluções, o estudo concluiu que a solução de clorexidina a 0,12% reduziu parcialmente os danos referentes às propriedades mecânicas da dentina coronária irradiada. Já no esmalte, a imersão em fluoreto de sódio a 0,05% apresentou similaridade no teste de resistência à tração tanto para o esmalte irradiado quanto o não irradiado.

Naves et al., 2012, avaliaram o efeito da radiação gama sobre a resistência de união de restaurações de resina composta ao esmalte e dentina humanos, antes e após a radioterapia. Trinta terceiros molares foram seccionados no sentido mésio-distal e divididos aleatoriamente em três grupos: controle (não irradiado), irradiado antes do procedimento restaurador e irradiado após o procedimento restaurador. As doses recebidas foram de 60 Gy totais, com aplicação diária de 2 Gy durante 5 dias por semana, totalizando 6 semanas ao final. Os espécimes foram seccionados e submetidos ao teste de microtração, seguido de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura. Os dados foram submetidos à ANOVA de dois fatores, seguido pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A radioterapia reduziu significativamente a resistência de união tanto para esmalte quanto para dentina, quando a restauração foi realizada após a irradiação. Além disso, os resultados mostraram um aumento na ocorrência de falhas coesivas dentro do substrato dental para o grupo restaurado após a radioterapia. Assim, o momento da restauração apresenta-se como fator determinante na resistência de união do substrato dentário irradiado com o material restaurador.

Yadav e Yadav, 2013, avaliaram o efeito da radiação ionizante sobre a interface resina-dentina em termos de adaptação e resistência de união, após termociclagem e carregamento mecânico. Foram utilizados 40 terceiros molares inferiores divididos em quatro grupos: GRI (não irradiado e restaurado com resina composta), GRII (irradiado e restaurado posteriormente), GRIII (restaurado e posteriormente irradiado) e GRIV (amostras restauradas concomitantemente à irradiação). Os espécimes passaram por ciclagem térmica e mecânica. As fatias de resina-dentina foram preparadas em formato de halteres e a resistência à microtração foi mensurada. As amostras foram submetidas à falha numa velocidade de 0,5 mm/min. Os dados de resistência de união foram analisados por ANOVA One-way. Ao final, pode-se concluir que a radioterapia pode afetar a resistência à microtração das restaurações de resina se as restaurações forem feitas após a radioterapia.

Gonçalves et al., 2014, objetivaram analisar os efeitos da radiação ionizante sobre as características mecânicas e micromorfológicas do esmalte e da dentina humanos. Após hemiseção dos dentes, a microdureza dos tecidos dentais foi avaliada em três profundidades (superficial, média e profunda) antes

e após cada dose de radiação de 10 Gy, totalizando 60 Gy ao final. A microdureza longitudinal foi utilizada como padrão de avaliação. Os dados foram analisados utilizando os testes de Kruskal-Wallis e Dunn ou Fisher a um nível de significância de 5%. Quanto ao esmalte, não houve alteração na microdureza como um todo, sendo observado apenas um aumento na microdureza do esmalte superficial. Ao analisar microscopicamente não foi notada alteração estrutural, entretanto as estruturas interprismáticas tornaram-se mais evidentes. Já na dentina, a microdureza diminuiu após cada dose comparada com a dentina não irradiada, especialmente na profundidade média das amostras. A análise microscópica revelou fissuras na estrutura dentinária, bem como a obliteração dos túbulos dentinários e, após doses de 30 e 60 Gy, verificou-se uma fragmentação das fibras de colágeno.

Em 2014, Mellara et al. investigaram os efeitos da radioterapia em dentes decíduos. A microdureza do esmalte e da dentina foi avaliada em três profundidades antes e após as diferentes doses da irradiação. As amostras receberam doses de 10 em 10 Gy até a dose total de 60 Gy. Foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura para análise morfológica. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de dois fatores e teste de Tukey. Após a dose de 60 Gy, a microdureza do esmalte aumentou no geral, principalmente na sua superfície. Em relação à dentina, houve diferença significativa nos valores de microdureza entre a dentina não irradiada e a irradiada com 10, 20, 30 e 40 Gy. Em geral, os maiores valores encontrados de microdureza foram para a dentina de profundidade média. Quanto às doses de 30 e 60 Gy, as maiores alterações foram encontradas na superfície das amostras, em comparação com os grupos não irradiados. Além disso, uma ruptura progressiva da morfologia do esmalte e da dentina foi encontrada à medida que a dose de radiação aumentou.

Qing et al., 2015, avaliaram o efeito da radiação gama no comportamento de desgaste do esmalte dentário humano em relação à orientação dos prismas. Para isso, utilizou-se testes de nano desgaste, perfilometria de superfície e microscopia eletrônica de varredura, para avaliar o comportamento de desgaste das camadas de esmalte antes e depois da radioterapia. Além disso, diferentes métodos foram usados para analisar as mudanças estruturais e químicas dos cristais do esmalte quando irradiado. A

microdureza superficial também foi avaliada. Os dentes receberam 60 Gy de radiação total, fracionados em 2 Gy diários, 5 dias por semana, durante 6 semanas. Após as análises, os resultados mostraram uma pequena quantidade de resistência ao nano desgaste, independente da orientação prismática. Além disso, a variação no comportamento de desgaste foi intimamente relacionada com mudanças na cristalografia, composição química e microdureza do esmalte. Assim, verificou-se que a irradiação teve efeitos diretos no comportamento de desgaste do esmalte dentário humano.

Reed et al., 2015, investigaram as propriedades nanomecânicas e a composição química dos tecidos dentários (esmalte e dentina) antes e depois da irradiação. Terceiros molares hígidos foram expostos a 2 Gy diários de radiação, 5 dias por semana, 7 semanas, até o total de 70 Gy. Avaliou-se o módulo de elasticidade e as proporções de proteína/mineral, carbonato/fosfato e o pico de fosfato. O módulo de elasticidade do esmalte e da dentina sofreram aumento significativo após radiação. Quimicamente, constatou-se uma significativa diminuição na proporção de proteína/mineral. A irradiação causou um aumento na dureza em esmalte próximo a junção amelodentinária, provavelmente devido à uma diminuição do conteúdo proteico, sendo seu percentual muito menor em esmalte. Tais mudanças nas propriedades mecânicas e composição química contribuiriam para a falha biomecânica que leva a delaminação de esmalte na área da junção, que é observada clinicamente após a radioterapia nos pacientes.

Santin et al., 2015, avaliaram se a radioterapia alteraria a resistência do esmalte de dentes irradiados após a colagem e descolagem de braquetes metálicos e cerâmicos. Dez molares permanentes foram cortados em fragmentos de 1 mm² de esmalte e divididos em um grupo irradiado (dose total de 60 Gy) e um grupo não irradiado. Além disso, 90 pré-molares foram divididos em 6 grupos e subgrupos (n=15): Grupo 1 - não irradiado e não envelhecido; Grupo 2 - não irradiado e envelhecido (ciclagem térmica); Grupo 3 - irradiado e envelhecido e cada grupo foi dividido em 2 subgrupos: braquetes metálicos e cerâmicos. Depois dos ciclos térmicos e radiação, os braquetes foram colados sobre os espécimes com Transbond XT (3M Unitek, Monrovia, Califórnia). Após 24 horas, as amostras foram submetidas ao ensaio de microcisolamento. Imagens das superfícies de esmalte foram classificadas

usando o índice de remanescente do adesivo. A interface resina-esmalte também foi avaliada. Concluiu-se que a radiação diminuiu a resistência do esmalte, sendo que os espécimes tratados com radioterapia apresentaram as maiores frequências de falha adesiva entre o suporte e a resina composta, bem como *tags* de resina mais extensos.

Da Cunha et al., 2016, investigaram o efeito de três doses diferentes de radiação na resistência de união de dois sistemas adesivos em esmalte e dentina. Oitenta terceiros molares foram divididos aleatoriamente em quatro grupos, sendo um controle e outros três com diferentes doses de radiação (20, 40 e 70 Gy). Os substratos foram divididos em grupos de esmalte e dentina e, em seguida, subdivididos em dois subgrupos de 10 cada, de acordo com o sistema adesivo utilizado. Dessa forma, foram realizadas restaurações em cada amostra usando o adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE) ou sistema adesivo universal Single Bond (3M ESPE) e resina composta Filtek Z350 XT (3M ESPE). Após o procedimento restaurador, foi realizado o teste de microcissalhamento. Para análise dos dados, ANOVA de dois fatores foi utilizado juntamente com teste de Tukey e os modos de falha foram examinados com lupa estereoscópica. Ao final, concluiu-se que a radioterapia não afetou a resistência de união tanto em esmalte quanto em dentina. O sistema adesivo universal Single Bond apresentou maiores valores de resistência à dentina em relação ao Adper Single Bond. Em esmalte, houve falhas adesivas em todas as doses e com os dois sistemas adesivos.

Ferreira et al., 2016, estudaram as consequências da radioterapia na constituição do esmalte de dentes decíduos usando fluorescência de raios-X e espectroscopia Raman antes e após o processo de ciclagem de pH. Para o estudo, foram utilizados dez molares decíduos e estes foram divididos em dois grupos: controle e irradiado. O grupo irradiado recebeu a dose total de 54 Gy, sendo 2 Gy por dia, durante 5 semanas. O grupo irradiado foi avaliado antes da radioterapia, pós-radioterapia e pós-radioterapia junto com a ciclagem. O grupo controle foi avaliado apenas antes e após a ciclagem de pH. Quanto à composição, foi avaliada a porcentagem em peso dos elementos Cálcio (Ca), Fósforo (P) e os componentes da matriz orgânica. Além disso, foram investigadas a razão Ca/P e a área integrada das bandas Raman em relação ao conteúdo orgânico, carbonato e fosfato. Em suma, as amostras de dentes

decíduos que passaram pelas doses de radioterapia tiveram uma redução no seu conteúdo orgânico.

Liang et al., 2016, analisaram os danos topográficos na superfície dentária, as alterações no comportamento de fricção e nas propriedades nanomecânicas (módulo de elasticidade, coeficiente de fricção e nanodureza) de dentes após radioterapia. Amostras de esmalte e dentina foram obtidas a partir de cinquenta terceiros molares humanos e distribuídas aleatoriamente em quatro grupos testes e um controle. Os grupos testes foram expostos à radiação de 2 Gy diários, durante 5 dias na semana, por 5 dias (grupo de 10 Gy), 15 dias (grupo de 30Gy), 25 dias (grupo de 50 Gy) e 35 dias (grupo de 70 Gy). As propriedades nanomecânicas dos dois substratos evidenciaram importante relação dose-resposta. Entre 30 e 50 Gy, a nanodureza e o módulo de elasticidade se mostraram mais variáveis. Já o coeficiente de fricção teve maior variação entre 0-10 Gy para dentina e 30-50 Gy em esmalte. As doses mais importantes foram de 30-50 Gy e os pontos-chave do tempo ocorreram do 15º ao 25º dia de tratamento, que é quando devem ser aplicadas medidas para prevenção de cáries relacionadas à radiação.

Em 2016, Novais et al. avaliaram o efeito da radiação gama em dentes tratados endodonticamente, em relação a microdureza e a resistência à flexão da dentina de dentes humanos e bovinos. Foram utilizados quarenta dentes unirradiculares e quarenta incisivos bovinos. Os dentes foram divididos em quatro grupos (n=10) decorrentes da associação dos dois fatores de estudo: tratamento endodôntico (2 níveis) e radioterapia (com ou sem). As doses foram fracionadas em 2 Gy por dia, 5 dias por semana, até 60 Gy. Os dentes foram divididos em dois fragmentos longitudinais. Uma metade foi analisada sobre o teste de flexão de três pontos e a outra metade foi utilizada para o teste de dureza Knoop. Os dados foram analisados por Three-way ANOVA e teste Tukey ($\alpha=0,05$). Nenhuma diferença significativa foi encontrada para valores de resistência à flexão. A dentina humana apresentou microdureza significativamente maior que a bovina. O tratamento endodôntico e a radioterapia resultaram em microdureza significativamente menor, independentemente do tipo de dente. Os resultados indicaram que a radioterapia teve efeitos deletérios sobre a microdureza da dentina humana e bovina e este efeito é aumentado pela interação com a terapia endodôntica.

Qing et al., 2016, estudaram os efeitos da radiação gama sobre o comportamento de desgaste da dentina humana. Dezenove pré-molares humanos foram coletados para obter-se a direção perpendicular ou paralela dos túbulos dentinários nos espécimes. As amostras foram irradiadas com 60 Gy, com doses diárias de 2 Gy. Testes de nanocratch foram realizados e os arranhões analisados por meio de microscópio eletrônico e perfilometria de superfície. A difração de raios-X e a espectroscopia infravermelha transformada de Fourier (FTIR) foram aplicadas para análise da mudança no padrão da cristalografia e composição química da dentina após a radiação. A alteração da microdureza superficial também foi avaliada. Constatou-se que o coeficiente de fricção da dentina irradiada foi maior e que a profundidade e tamanho do desgaste também. Além disso, notou-se uma formação de cristais maiores na dentina irradiada. A microdureza foi significativamente inferior na dentina após receber a radiação. Os principais achados microscópicos foram delaminação e quebra em ambos substratos, cortados perpendicularmente ou paralelamente aos túbulos dentinários após a irradiação.

Da Cunha et al., 2017, analisaram os efeitos de três doses diferentes de radiação (20, 40 e 70 Gy) na microdureza, morfologia superficial e conteúdo mineral (com base nos valores de Ca e P) de três diferentes profundidades de esmalte (cervical, médio e oclusal). No total, 34 terceiros molares foram seccionados, separados e preparados. As amostras de microdureza foram incluídas em resina acrílica e polidas para delimitação das profundidades. Amostras de esmalte cervical, médio e oclusal foram submetidas ao teste com 50 g durante 30 segundos antes e após a radiação. Amostras também foram analisadas no microscópio eletrônico de varredura (n=4), além de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) (n=12). Para análise dos resultados, utilizou-se ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). A microscopia eletrônica de varredura e EDS foram utilizadas na análise qualitativa das amostras. Por fim, independentemente da dose observou-se uma diminuição na microdureza do esmalte cervical, sem muitas alterações nas demais regiões. Não foram evidenciadas alterações na morfologia e nem na composição das amostras.

Abdalla et al., 2018, avaliaram a detecção de desmineralização do esmalte e do cimento através da densitometria radiográfica em dentes

irradiados e não irradiados. Sessenta dentes foram divididos em dois grupos (n=30): irradiado (com dose única de 60 Gy) e não irradiado, e após isso, ambos os grupos foram submetidos ao processo de ciclagem de desmineralização-remineralização. O processo de ciclagem se deu a 37°C, onde a amostra esteve imersa durante 3 horas numa solução desmineralizante de pH 4,3, seguida de 21 horas em solução remineralizante de pH 7,0. Radiografias foram realizadas antes e após o ciclo de pH, buscando padronização da incidência do feixe de raio X, através da técnica do paralelismo. A radiodensidade foi mensura no início do estudo, sem o processo de ciclagem, e após o experimento, levando em consideração determinados pontos. Através da análise densitométrica, foi possível perceber que o processo de ciclagem reduziu significativamente os valores de cinza dos tecidos dentários em estudo nos dois grupos, representando a redução mineral tecidual. O valor médio do nível de cinza nas radiografias evidencia o grau de desmineralização, onde no esmalte irradiado a redução foi de cerca de 53 e no esmalte não irradiado 40.

Lopes et al., 2018, buscaram entender o efeito do flúor tópico durante a irradiação sobre a composição química, propriedades mecânicas e morfologia do esmalte após ciclagem de pH *in vitro*. Trinta terceiros molares foram divididos aleatoriamente em três grupos (n=10): não irradiado (NI); irradiado em umidade relativa (IU) e irradiado em flúor gel neutro (IF). E cada grupo foi ainda subdividido em dois subgrupos (n=5) de acordo com a presença de ciclagem de pH: com e sem ciclagem. Os dentes dos grupos IU e IF foram submetidos à um protocolo de irradiação de 2 Gy diários, 5 dias por semana, durante 7 semanas, totalizando 70 Gy. Alterações químicas foram quantificadas por meio de Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR). Os parâmetros avaliados foram: razão matriz:mineral (M:M), conteúdo relativo de carbono (CRC) e cristalinidade. Também foi realizada avaliação da microdureza (VHN) e do módulo de elasticidade (E) do esmalte em três profundidades (superficial, médio e profundo). A morfologia do esmalte foi avaliada por meio de microscópio eletrônico de varredura (MEV) (n=3). M:M, CRC e cristalinidade foram analisados por meio de ANOVA em dois fatores e os dados de VHN e E foram analisados por meio de ANOVA em três fatores seguido pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Conclui-se que a radioterapia altera o

módulo de elasticidade do esmalte. A ciclagem de pH aumenta a cristalinidade e o conteúdo de fosfato do esmalte e também aumenta as propriedades mecânicas. No entanto, diminui o conteúdo de carbonato. O fluoreto associado a radioterapia reduz a exposição da matriz orgânica e ajuda a manter a morfologia externa do esmalte irradiado.

Rodrigues et al., 2018, avaliaram as propriedades biomecânicas da dentina e a resistência à microtração realizada antes ou após a radioterapia. Amostras de dentina irradiada e não irradiada (n=5) foram avaliadas com os seguintes métodos: espectroscopia infravermelha transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura e teste de dureza e módulo de elasticidade. As doses totais aplicadas foram de 72 Gy, sendo 1,8 Gy por dia durante 5 semanas, totalizando 8 semanas, com a amostra imersa em água destilada. Três grupos (n=10) foram avaliados para resistência à microtração: grupo controle (não irradiado), irradiado antes da restauração e irradiado após a restauração. Foram obtidas amostras de resina-dentina com espessura de 1,0mm² e, dessa forma, submetidas ao teste de microtração. A análise da interface de união foi feita por microscopia confocal. Após a radioterapia, o cálculo da razão percentual entre as áreas das bandas analisadas demonstrou um aumento da absorção em todas as bandas. Houve um aumento da microdureza e diminuição do módulo de elasticidade, evidenciando uma desorganização na dentina. A resistência de união foi afetada pela radioterapia e pelo momento da restauração (antes ou depois a irradiação). Dessa forma, concluiu-se que a radioterapia provoca alterações que contribuem para o aumento do risco de cárie dentária e que tratamentos restauradores preferencialmente devem ser realizados antes do protocolo de irradiação, aumentando as propriedades adesivas dos materiais.

Santin et al., 2018, avaliaram a resistência ao cisalhamento e força de adesão de braquetes ortodônticos de metal aderidos ao dente submetido à irradiação, com cimento de ionômero de vidro convencional e resina composta modificada com ionômero de vidro. Noventa pré-molares humanos foram divididos em 6 grupos (n=15) de acordo com o material utilizado para colar o braquete ortodôntico e o uso ou não da radiação. Os grupos determinados foram: CR (Resina Composta Transbond XT), RMGIC (Cimento de ionômero de vidro convencional Fuji Ortho LC), GIC (Cimento de ionômero de vidro

modificado por resina KETac CEm Easymix) e, além disso, irradiado e não irradiado. Para o processo de irradiação ionizante, foram utilizadas doses fracionadas em 2 Gy diários, 5 dias por semana, totalizando 6 semanas. A colagem dos braquetes foi realizada em uma área do dente previamente definida, no tamanho de 5 mm de diâmetro. A colagem do braquete foi realizada utilizando o protocolo proposto para cada tipo de material. Os testes de cisalhamento foram realizados 24 horas após o protocolo de colagem, posicionando a ponta ativa da máquina entre o braquete e o esmalte, aplicando uma força de 20 kgf com uma velocidade de 0,5 mm/min. Dessa forma, após a retirada do braquete, o esmalte foi analisado em lupa estereoscópica, seguindo a seguinte classificação: 0- nenhum adesivo deixado no esmalte, 1- menos da metade do adesivo deixado no esmalte, 2- mais da metade do adesivo deixado no esmalte, 3- toda o material resinoso aderido ao esmalte. Pode-se perceber que comparando os subgrupos (irradiado ou não), não houve diferença estatística significativa entre eles. De acordo com a classificação utilizada, o subgrupo irradiado e colado com resina composta apresentou maior retenção do compósito à amostra, enquanto os outros grupos apresentaram maior frequência de falha do tipo 0.

Syedmahmoud et al., 2018, tiveram como objetivo determinar os efeitos *in vitro* e *in vivo* de altas doses radioterápicas na microdureza e na morfologia do padrão de indentação associada ao esmalte. Foram utilizados para esse estudo três grupos (n= 6): grupo controle (não irradiado), irradiado *in vitro* e irradiado *in vivo*. O grupo irradiado *in vitro* foi submetido ao protocolo de radioterapia recebendo 2 Gy diários, durante 5 dias, totalizando 7 semanas e a dose total de 70 Gy. Em contrapartida, o grupo irradiado *in vivo* foi obtido a partir de dentes com indicação de exodontia em pacientes oncológicos que receberam radiação ionizante na região de cabeça e pescoço. Os dentes tiveram as suas raízes seccionadas em aproximadamente 5 a 6 mm abaixo da junção cimento-esmalte. Além disso, a amostra foi repartida no sentido vestibulo-lingual e méso-distal. Para o teste de microindentação, foi utilizada a microdureza Vickers, aplicando uma força de 500 gf durante 12 segundos, em 3 regiões diferentes das amostras: superfície, no meio do esmalte e na porção mais interna. Os valores de microdureza mostraram que as regiões médias e superficiais do esmalte irradiado *in vivo* e *in vitro* apresentaram uma redução

significativa em relação ao grupo controle. Foram analisados dois padrões de indentação: A) presença de microfissuras ao redor da indentação e B) periferia limpa. A porcentagem de padrão B foi maior nos grupos irradiados comparados ao controle, sendo que foi mais observado o padrão B no grupo irradiado *in vivo*. Assim, pode-se perceber que a irradiação *in vitro* e *in vivo* alteraram a microdureza do esmalte dentário, bem como o padrão de indentação, sugerindo maior fragilidade após a exposição à radiação ionizante.

Velo et al., 2018, buscando uma melhor compreensão dos fatores associados às lesões cariosas que aparecem após radioterapia, analisaram as propriedades da dentina radicular de 20 terceiros molares utilizando os métodos de dureza superficial, espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) e difração de raios-X. Além disso, outros seis dentes foram preparados e analisados por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Após aleatorização, os dentes foram divididos em 2 grupos de 13 para serem submetidos à radiação de 55 Gy ou 70 Gy utilizando um acelerador linear. As porcentagens do EDX e a dureza superficial foram determinadas com base em medições antes e depois da irradiação. Os espécimes foram também analisados após irradiação por MEV e difração de raios-X. A relação de peso Ca/P foi calculada. Os resultados apresentados pela MEV mostraram desidratação da dentina e diminuição da relação Ca/P após radiação. A perda da dureza superficial foi maior no grupo irradiado com 70 Gy do que com 55 Gy, sendo que mesmo em dosagem menor também foi observado alterações na dentina radicular. Assim, foi possível notar que a exposição à radiação altera a composição e estrutura da dentina radicular humana, afetando negativamente sua dureza.

Arid et al., 2019, estudaram os efeitos da radiação ionizante na morfologia da superfície do esmalte e da dentina para determinar o melhor sistema adesivo e o melhor momento para restauração de dentes em pacientes com câncer de cabeça e pescoço. Foram obtidos 120 fragmentos de esmalte e 120 fragmentos de dentina, divididos em quatro grupos (n=30): G1 equivalente ao controle (não irradiado e restaurado); G2 restaurado imediatamente antes da radioterapia; G3 restaurado imediatamente após a radioterapia e G4 restaurado 6 meses após a radioterapia. Além disso, os grupos foram subdivididos em 2 subgrupos de acordo com o sistema adesivo: Adper Single Bond (SB) e Clearfil SE Bond (CL). Para a inserção do compósito foi utilizada

uma matriz de teflon a fim de padronizar os incrementos, utilizando as instruções dos fabricantes de cada adesivo. As amostras foram submetidas a radiação ionizante, recebendo 2 Gy diários durante 5 dias, total de 6 semanas e uma dose acumulativa de 60 Gy. Após o procedimento restaurador e radioterápico, as amostras foram submetidas à microscopia confocal para análise morfológica, sendo realizada antes da radioterapia e após cada 10 Gy até a dose final de 60 Gy. Após 24 horas do recebimento da dose total de radiação, as amostras foram submetidas ao teste de resistência de união, onde foi aplicada uma força de 20 kgf a uma velocidade de 0,5 mm. Após a falha das restaurações, as amostras foram levadas para análise na microscopia confocal, onde foram determinadas as seguintes classificações: fratura adesiva, fratura coesiva restrita ao substrato dentinário, fratura coesiva restrita ao adesivo e/ou compósito resinoso e fratura mista envolvendo adesivo e/ou compósito resinoso e/ou estrutura dental. As alterações morfológicas foram observadas após a totalização de 40 Gy e em ambos os substratos. O grupo CL apresentou os maiores valores de união em ambos os substratos e G2 os menores valores para esmalte e dentina. Com relação a fratura, as falhas adesivas foram mais predominantes em todos os grupos. Porém, G3 do subgrupo CL evidenciou alta prevalência de fratura coesiva restrita ao adesivo e/ou resina composta. A radioterapia modificou consideravelmente a morfologia superficial do esmalte e da dentina, alterando a força de adesão aos materiais restauradores. O sistema Clearfil SE Bond apresentou melhores valores comparados ao Adper Single Bond e os procedimentos restauradores antes da radioterapia resultaram em piores resultados em ambos os substratos.

Campi et al., 2019, analisaram as alterações químicas na dentina radicular causadas pela radiação ionizante. Para tal, foram usados 20 pré-molares homólogos divididos em 2 grupos (n=10): irradiado e não irradiado. Os dentes foram irradiados utilizando um regime fracionário de 2 Gy, por 5 dias consecutivos, com 30 ciclos, durante 6 semanas, totalizando 60 Gy. Os espécimes foram submetidos à análise de fosfato (v1 PO_4^{3-} ; v2 PO_4^{3-} ; v4 PO_4^{3-}), carbonato (v3 CO_3^{2-}), amida I, CH_2 , amida III e razão amida I/III por espectroscopia confocal Raman. Os resultados demonstraram mudanças estatisticamente significantes no grupo irradiado na dentina radicular intracanal para razão amida I/III, v4 PO_4^{3-} , carbonato e principalmente amida III, que

apresentou redução significativa. Para a dentina média, os valores de fosfato do grupo irradiado foram inferiores aos do grupo não irradiado. Já no cimento não houve alterações estatisticamente relevantes. Portanto, a radioterapia foi capaz de causar alterações nos picos de $\nu_4 \text{PO}_4^{3-}$, carbonato e amida III da dentina radicular.

Lu et al., 2019, avaliaram os efeitos diretos induzidos pela radiação nos tecidos dentais duros e investigar o seu papel na formação da cárie após radioterapia. Foram usados 60 terceiros molares divididos em 3 grupos (n=20), os quais seriam expostos a radiação de 0 Gy, 30 Gy e 60 Gy, respectivamente. Após a irradiação, a microdureza e o módulo de elasticidade foram medidos em quatro profundidades por meio de um microdurômetro Vickers e microscopia de força atômica (AFM). A microestrutura foi observada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A difratometria de raios-X e a microespectroscopia Raman foram usadas para determinar as propriedades cristalinas e as relações proteína/mineral ($2931/960 \text{ cm}^{-1}$). Uma redução significativa nos valores de microdureza e módulo de elasticidade a 50 μm da junção amelodentonária no esmalte foi revelada nos grupos de 30 Gy e 60 Gy. Com o aumento da dose, destruição da estrutura interprismática e fissuras na região adjacente à junção foram encontradas. Uma maior redução da cristalinidade foi revelada no esmalte em comparação com a dentina. A espectroscopia Raman mostrou um leve aumento da relação proteína/mineral para o esmalte após a radiação, enquanto essa relação para a dentina reduziu. Dessa forma, a radiação foi capaz de alterar diretamente as propriedades mecânicas, a micromorfologia, as propriedades cristalinas e a composição química dos tecidos dentais duros.

5. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é avaliar as alterações químicas no esmalte dentário humano quando submetido à diferentes doses de radiação, aplicadas em dose única ou fracionada.

6. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A) Unidade experimental: Terceiros molares humanos.

B) Fatores em estudo: Irradiação em três níveis (não irradiado, irradiado em dose única e irradiado em doses fracionadas); Dose de radiação em três níveis (30 Gy, 50 Gy e 70 Gy).

C) Variável resposta: Composição química (Fosfato, Amida I, Carbonato, Razão matriz orgânica/matriz mineral (M:M) e Conteúdo relativo de carbonato (CRC)).

D) Método de análise: Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR) pela técnica de Reflexão Total Atenuada (ATR).

E) Métodos estatísticos: Utilizou-se teste paramétrico One-way ANOVA ($\alpha=0,05$) e, nos dados que apresentaram diferenças significativas, seguiu-se com o teste de Dunnett. Excluindo-se o grupo controle, um teste Two-way ANOVA foi realizado para verificar diferenças entre os fatores em estudo (fracionamento e dose) e, nos casos em que estas foram detectadas, seguiu-se com o teste de Tukey.

7. MATERIAL E MÉTODOS

a) Obtenção, seleção e armazenamento dos dentes

Após a aprovação no comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia (parecer número 2.910.276), 56 terceiros molares humanos foram coletados. Os dentes foram obtidos nas clínicas de cirurgia da Faculdade de Odontologia de UFU. Todos os dentes possuíam indicação clínica de exodontia e foram utilizados na pesquisa após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos pacientes. Os dentes foram armazenados em água deionizada a temperatura de 4°C por até 3 meses. Posteriormente, foram avaliados quanto à preservação da estrutura e ausência de cáries e outros defeitos. Após certificada a viabilidade do uso dos dentes, estes foram devidamente limpos através de curetagem para deixá-los livres de cálculos e restos orgânicos (Figura 1). Em seguida, a profilaxia foi realizada com pedra-pomes (SS White, RJ, Brasil) e água destilada com o auxílio de escova tipo Robson (KG Sorensen, SP, Brasil) montada em micromotor.

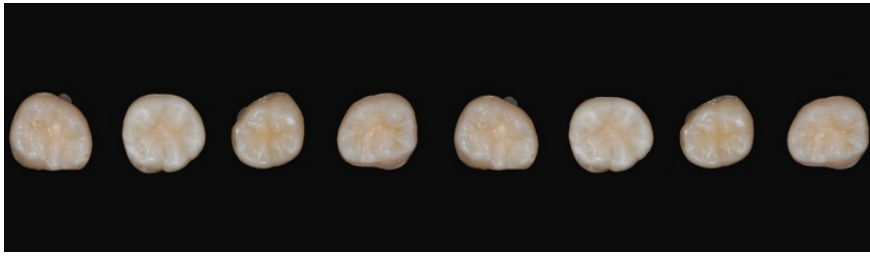


Figura 1: Terceiros molares limpos e selecionados para um dos grupos.

b) Irradiação dos dentes

Os dentes irradiados *in vitro* foram fixados em placas de cera utilidade (NewWax, Technew, Rio de Janeiro, Brasil) e submetidos ao protocolo radioterápico no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro a partir do equipamento acelerador linear (Clinac 600C Varian®, feixe de 6 MV) (Figura 2). Os dentes foram divididos em sete grupos experimentais (n=8): não irradiado (Controle); irradiado em dose única de 30Gy (DU 30Gy); dose única de 50 Gy (DU 50Gy); dose única de 70 Gy (DU 70Gy); doses fracionadas até 30 Gy (DF 30Gy); doses fracionadas até 50 Gy (DF 50Gy); doses fracionadas até 70 Gy (DF 70Gy). Os grupos de dose única receberam a irradiação em uma única sessão, conforme a dose total estabelecida para o grupo. Já os grupos de doses fracionadas receberam 2 Gy diários, 5 dias por semana, até atingirem a dose total de 30, 50 ou 70 Gy. Durante o processo de irradiação, os dentes foram mantidos imersos em água deionizada. O grupo não irradiado foi armazenado em água deionizada a 4°C até que os outros grupos completassem a irradiação.



Figura 2: Irradiação das amostras com o acelerador linear Clinac 600C Varian®.

c) Preparo das amostras

Para análise das propriedades químicas, 8 dentes de cada grupo foram fixados em placa 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 (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) sob refrigeração, 1 mm abaixo da junção amelocementária para remoção das raízes (Figura 3). Em seguida, cada coroa foi seccionada no sentido méso-distal, obtendo-se duas metades (vestibular e lingual). Estas metades foram novamente seccionadas no sentido vestibulo-lingual, obtendo-se quatro hemisecções. As hemisecções vestibulares mesiais foram destinadas à análise por meio de Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR) (Figura 4).

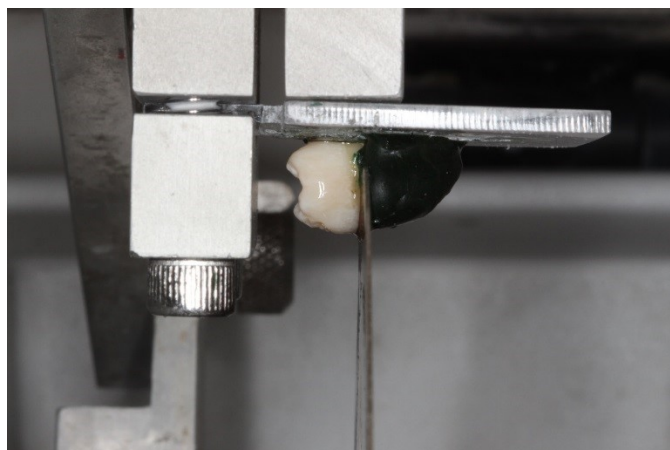


Figura 3: Remoção das raízes utilizando disco montado em cortadeira de precisão.

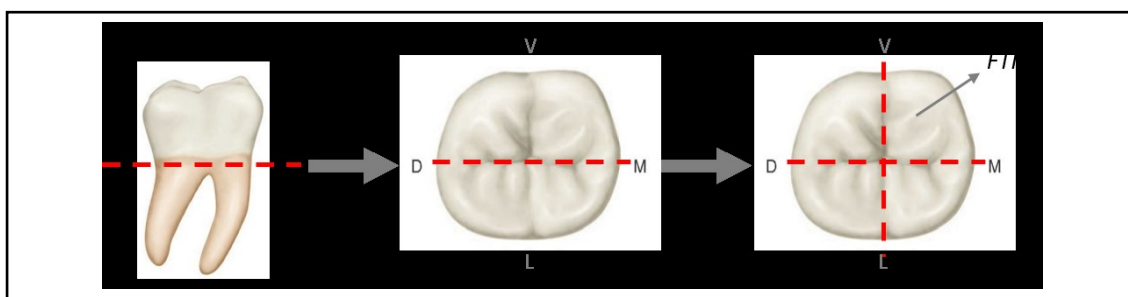


Figura 4: Esquema ilustrativo do preparo das amostras.

d) Espectroscopia Infravermelha Transformada de Fourier (FTIR)

A composição química das amostras foi determinada utilizando Espectrômetro Infravermelho com Transformada de Fourier (Vertex 70, Bruker, Ettlingen, Alemanha) por meio da técnica de Reflexão Total Atenuada (ATR) (Figura 5). A superfície do esmalte testada foi posicionada em contato com o cristal de diamante da unidade ATR (Figura 6). Assim, os espectros foram registrados no 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 todas essas leituras. Os espectros foram registrados e analisados com o *software* OPUS 6,5 (Bruker, Ettlingen, Alemanha).

Após correção da linha de base e normalização pela banda do fosfato (702-1190 cm^{-1}) dos espectros, os seguintes parâmetros químicos foram analisados: razão matriz/mineral (M:M) e o conteúdo relativo de carbonato (CRC). A M:M é dada pela razão entre as áreas integradas das bandas de amida I (1653 cm^{-1}) e de fosfato $\nu_{3,1}$ no modo de alongamento (960 cm^{-1} e 1040

cm^{-1}). Já o CRC é representado pela razão entre a área integrada dos dois picos mais fortes de carbonato ν_3 (1460 cm^{-1} e 1415 cm^{-1}) e a área dos dois picos de fosfato ν_4 (602 cm^{-1} e 568 cm^{-1}) (Lopes et al., 2018).



Figura 5: Espectrômetro FTIR com dispositivo ATR (Vertex 70, Bruker).

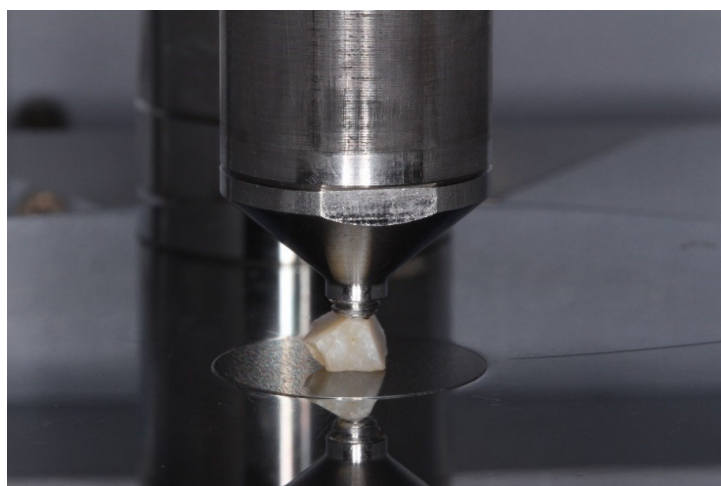


Figura 6: Superfície do esmalte posicionada sobre o cristal do equipamento.

e) Análise estatística

Após os testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e igualdade de variância (Levene), os dados foram analisados com teste paramétrico One-way ANOVA com nível de significância igual a 5% e, em seguida, submetidos ao teste de Dunnett. Excluindo-se o grupo controle, um teste Two-way ANOVA foi feito para verificar diferenças nos fatores fracionamento e dose de radiação e, uma vez detectada diferença, prosseguiu-se com o teste de Tukey. Para as análises utilizou-se o pacote estatístico Sigma Plot (versão 12.0, Systat Software, Inc.,

San José, CA, EUA) e considerou-se que um valor de p inferior a 0,05 era estatisticamente significativo.

8. RESULTADOS

One-way ANOVA mostrou diferença estatística significativa entre os grupos para todos os componentes químicos isolados (Amida I $p < 0,001$; Fosfato $v_{3,1}$ $p < 0,001$; Carbonato v_3 $p = 0,011$; Fosfato v_4 $p < 0,001$). Assim, procedeu-se um teste de comparação de médias (teste de Dunnett) que revelou diferenças entre os grupos controle e DF 70Gy na Amida I ($p = 0,021$), controle e DU 70Gy no Fosfato $v_{3,1}$ ($p < 0,001$), controle e DU 30Gy no Fosfato v_4 ($p = 0,005$) e controle e DU 50Gy no Fosfato v_4 ($p = 0,004$), conforme pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Média e desvio-padrão (DP) da área integrada de cada componente químico nos grupos experimentais.

	<i>Amida I</i>	<i>Fosfato $v_{3,1}$</i>	<i>Carbonato v_3</i>	<i>Fosfato v_4</i>
Controle	0,23 (0,14)	11,46 (0,63)	1,90 (0,30)	5,28 (0,57)
DU 30Gy	0,24 (0,07)	12,09 (0,36)	2,17 (0,44)	6,38 (0,41)*
DU 50Gy	0,17 (0,06)	11,67 (0,88)	1,65 (0,51)	6,40 (0,35)*
DU 70Gy	0,32 (0,14)	9,57 (1,30)*	1,53 (0,40)	4,62 (0,95)
DF 30Gy	0,22 (0,07)	11,21 (0,62)	1,86 (0,19)	4,71 (0,48)
DF 50Gy	0,16 (0,07)	11,08 (1,01)	1,73 (0,45)	5,04 (0,90)
DF 70Gy	0,12 (0,06)*	11,07 (0,34)	1,49 (0,22)	5,39 (0,48)

*Diferença estatística significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$).

Já para a razão matriz orgânica/matriz mineral (M:M), One-way ANOVA mostrou diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,001$). Assim, procedeu-se um teste de comparação de médias (teste de Dunnett) que

detectou diferenças entre os grupos controle e DU 70Gy ($p=0,034$) e entre os grupos controle e DF 70Gy ($p=0,039$), conforme pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2. Média e desvio-padrão (DP) da razão M:M nos grupos experimentais, incluindo o grupo controle.

	<i>Média (DP)</i>	<i>Valor de p</i>
Controle	0,020 (0,011)	-
DU 30Gy	0,020 (0,006)	$p=0,999$
DU 50Gy	0,014 (0,004)	$p=0,640$
DU 70Gy	0,035 (0,018)*	$p=0,034$
DF 30Gy	0,020 (0,006)	$p=0,999$
DF 50Gy	0,015 (0,006)	$p=0,623$
DF 70Gy	0,011 (0,005)*	$p=0,039$

*Diferença estatística significativa em relação ao grupo controle ($p<0,05$).

Excluindo-se o grupo controle, um teste Two-way ANOVA foi feito para a razão M:M considerando os dois fatores em estudo (fracionamento e dose de radiação). Assim, não houve diferença estatística para o fator dose isolado ($p=0,057$), mas houve para o fator fracionamento ($p=0,002$) e para a interação fracionamento X dose ($p<0,001$). Dentro dos grupos de dose única, teste de Tukey mostrou que a razão M:M foi maior no grupo de 70 Gy do que nos outros dois, sendo estatisticamente significativa. Já para os grupos irradiados em dose fracionada, Tukey revelou diferença significativa somente entre os grupos de 30 Gy e 70 Gy, sendo que neste último a razão M:M foi menor. Em relação ao fracionamento ou não da radiação percebeu-se diferença significativa somente entre os grupos de 70 Gy, sendo que o grupo de dose única apresentou uma média maior para a razão M:M do que o grupo de dose fracionada, conforme pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3. Média e desvio-padrão (DP) da razão M:M nos grupos experimentais, sem o grupo controle.

<i>Fracionamento da dose</i>			
		Única	Fracionada
Dose de radiação	30 Gy	0,020 (0,006) Aa	0,020 (0,006) Aa
	50 Gy	0,014 (0,004) Aa	0,015 (0,006) ABa
	70 Gy	0,035 (0,018) Bb	0,011 (0,005) Ba

Diferentes letras maiúsculas representam diferença estatisticamente significativa nas colunas e diferentes letras minúsculas nas linhas ($p < 0,05$).

Para o conteúdo relativo de carbonato (CRC), One-way ANOVA não revelou diferença estatística significativa entre os grupos ($p = 0,063$). Dessa forma, todos os grupos experimentais apresentaram valores semelhantes para a razão CRC, incluindo o grupo controle (Tabela 4).

Tabela 4. Média e desvio-padrão (DP) da razão CRC nos grupos experimentais, incluindo o grupo controle.

<i>Média (DP)</i>	
Controle	0,36 (0,08)
DU 30Gy	0,34 (0,08)
DU 50Gy	0,26 (0,08)
DU 70Gy	0,35 (0,13)
DF 30Gy	0,40 (0,07)
DF 50Gy	0,36 (0,13)
DF 70Gy	0,28 (0,06)

Não houve diferença estatística significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

Ainda para a razão CRC, excluiu-se o grupo controle e realizou-se um teste Two-way ANOVA, considerando os dois fatores em estudo (fracionamento e dose de radiação). Assim, verificou-se que não houve diferença estatística para os fatores dose ($p=0,246$) e fracionamento ($p=0,082$) isolados e nem para a interação fracionamento X dose ($p=0,075$), conforme pode ser visto na Tabela 5.

Tabela 5. Média e desvio-padrão (DP) da razão CRC nos grupos experimentais, sem o grupo controle.

<i>Fracionamento da dose</i>			
		Única	Fracionada
Dose de radiação	30 Gy	0,34 (0,08) Aa	0,40 (0,07) Aa
	50 Gy	0,26 (0,08) Aa	0,36 (0,13) Aa
	70 Gy	0,35 (0,13) Aa	0,28 (0,06) Aa
Não houve diferença estatística significativa entre os grupos ($p>0,05$).			

9. DISCUSSÃO

A hipótese nula foi rejeitada, uma vez que diferentes doses e protocolos de radiação produziram alterações na composição química do esmalte. Isto provavelmente ocorreu devido à uma interação da radiação com os componentes químicos da estrutura dentária, sendo capaz de alterá-los.

O esmalte dentário é derivado de células epiteliais e exerce função protetora para a coroa dos dentes. Em quase toda sua totalidade é constituído em 96% por matriz inorgânica, na forma de cristais de apatita e o restante de matriz orgânica, sendo 3,5% de água e 0,5% material proteico. Dessa forma, o esmalte é caracterizado como o tecido mais mineralizado do corpo humano (Nanci, 2013; Junqueira & Carneiro, 2017). Assim, a metodologia escolhida para este estudo foi a espectroscopia FTIR, já que ela fornece informações

sobre a composição química das amostras por meio de vibrações moleculares (Lopes et al., 2018). Como vantagens desta técnica podem ser citadas a obtenção de uma boa relação sinal/ruído, conseguindo espectros de ótima qualidade em um curto período de tempo e a possibilidade de analisar materiais em suas formas naturais, sem necessidade de preparos específicos (Pereira, 2003).

A razão M:M avalia a quantidade de matriz orgânica em relação à matriz inorgânica (Lopes et al., 2018). A matriz orgânica influencia a quantidade, a qualidade e a distribuição dos cristais minerais, podendo alterar a arquitetura hierárquica do esmalte e afetar suas propriedades mecânicas (Sa et al., 2014). No presente estudo, as alterações na matriz orgânica foram verificadas por meio da avaliação da amida I, que corresponde à banda de absorção mais intensa do colágeno (Miranda et al., 2019 Rodrigues et al., 2018). Ambos os grupos irradiados com 70 Gy mostraram diferenças na razão M:M quando comparados ao grupo controle, sendo que o grupo fracionado mostrou maiores alterações relacionadas à amida I. Esses achados são corroborados por estudos prévios que afirmam que a radioterapia altera a matriz orgânica dos tecidos dentais (Soares et al., 2010; Lieshout e Bots, 2014; McGuire et al., 2014; Miranda et al., 2019; Rodrigues et al., 2018).

CRC indica o conteúdo de carbonato de uma determinada amostra. O carbonato, impureza que confere maior solubilidade e instabilidade ao esmalte, representa 3% do peso seco do esmalte (Xu et al., 2012). Os diferentes protocolos de radiação não alteraram o CRC e é provável que isso seja devido ao fato de que o estudo buscava avaliar puramente os efeitos da dose e do fracionamento da radiação sobre o esmalte dental, não armazenando as amostras em meios com pH ácido ou utilizando protocolos de desmineralização que fossem capazes de causar a sua dissolução, deixando o carbonato mais solúvel ou alterando-o (Xu et al, 2012; Lopes et al, 2018).

Em relação à dose, os grupos com 70 Gy (independentemente se dose única ou fracionada) tiveram alterações na matriz M:M em relação àqueles de 30 Gy e 50 Gy. Esses resultados condizem com os achados de Walker et al. (2011), Reed et al. (2015) e Ferreira et al. (2016), uma vez que o aumento da dose é diretamente proporcional às alterações encontradas no tecido dentário, porém contrapõe os resultados encontrados por Liang et al. (2016), que afirma

que as doses de radiação de 30 e 50 Gy são capazes de alterar a estrutura dentária. Cabe ressaltar que, na maioria dos pacientes, os protocolos radioterápicos antineoplásicos na região de cabeça e pescoço se baseiam em padrões preestabelecidos em doses fracionadas de 1,8 a 2 Gy que podem variar de 60 a 70 Gy a depender do estado de diagnóstico do tumor (Quing et al., 2016; Zhao et al., 2018). Nos casos mais graves, é preconizado a aplicação de doses terapêuticas diárias até que se obtenha valores iguais ou superiores a 70 Gy para que se possa obter resultados favoráveis quanto a regressão do tumor (Rades et al., 2016; Blanchard et al., 2019).

Altas doses de radiação no presente estudo (70 Gy) foram capazes de induzir alterações tanto na amida I quanto no fosfato $\nu_{3,1}$, podendo tornar o esmalte mais susceptível à ácidos (Lopes et al., 2018). Portanto, essas alterações químicas na estrutura do esmalte podem justificar a maior susceptibilidade à cárie nos pacientes submetidos à radioterapia na região de cabeça e pescoço, uma vez que os protocolos preconizados nos centros de tratamento utilizam doses fracionadas de 60 a 70 Gy e estas facilitam o processo de desmineralização por meio de uma desorganização química da estrutura dentária. Mais estudos são necessários, avaliando ainda outras propriedades, como propriedades morfológicas e mecânicas.

Diante do exposto, o trabalho mostrou que a alteração da estrutura a nível de alterações moleculares, pode ser detectada quando altas doses de radiação foram aplicadas. Além disso, a aplicação de forma única e fracionada faz com que o comportamento das amostras seja diferente. Portanto, apesar de a aplicação na forma de dose única facilitar os estudos laboratoriais, uma vez que diminui o tempo da pesquisa e o uso do equipamento, a dose fracionada reproduz melhor o que é feito clinicamente nos pacientes, quando se tratando de estrutura dentária.

10. CONCLUSÃO

- Dentro das limitações desse estudo, as doses de radiação de 70 Gy apresentaram valores alterados da razão M:M em relação ao grupo controle e, dessa forma, foram capazes de produzir alterações na composição química do esmalte dentário humano, independentemente do fracionamento ou não.

- Doses de 30 e 50 Gy apresentaram valores semelhantes quanto à composição química, não sendo capazes de produzir alterações significativas na razão M:M e no CRC.

- A radiação ionizante se comportou de forma diferente nos grupos de dose única e dose fracionada, sendo possível observar que a aplicação da radiação de forma fracionada até 70 Gy exerceu efeito deletério na razão M:M, apesar de não produzir o mesmo efeito sobre o CRC.

11.REFERÊNCIAS

1. Abdalla R, Oma A, Eid K. Detecting demineralization of enamel and cementum after gamma irradiation using radiographic densitometry. **Radiat Environ Biopshys**. 2018;57(3):293-9.
2. Arid J, Palma-Dibb RG, de Oliveira HF, Nelson-Filho P, de Carvalho FK, da Silva LAB, de Siqueira Mellara T, da Silva RAB, Faraoni JJ, de Queiroz AM. Radiotherapy impairs adhesive bonding in permanent teeth. **Support Care Cancer**. 2019. doi: 10.1007/s00520-019-04782-5.
3. Blanchard P, Biau J, Castelli J, Tao Y, Graff P, Nguyen F. Individualization of dose and fractionation of radiotherapy for head and neck cancers. **Cancer Radiother**, 2019; 23(6-7)
4. Campi LB, Lopes FC, Soares LES, de Queiroz AM, de Oliveira HF, Saquy PC, de Sousa-Neto MD. Effect of radiotherapy on the chemical composition of root dentin. **Head Neck**. 2019;41(1):162-9.
5. Carneiro-Neto JN, de-Menezes JDS, Moura LB, Massucato EMS, de Andrade CR. Protocols for management of oral complications of chemotherapy and/or radiotherapy for oral cancer: Systematic review and metaanalysis current. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**. 2017;22(1):e15-23.
6. Cunha SRB, Fonseca FP, Ramos PAMM, Haddad CMK, Fregnani ER, Aranha ACC. Effects of different radiation doses on the microhardness, superficial morphology, and mineral components of human enamel. **Arch Oral Biol**. 2017;80:130-5.
7. Cunha SRB, Ramos PA, Haddad CM. da Silva JL, Fregnani, ER, Aranha ACC. Effects of different radiation doses on the bond strengths of two different adhesive systems to enamel and dentin. **J Adhes Dent**. 2016;18(2):151-6.
8. Ferreira EMS, Soares LES, Antunes HS, Uemura ST, Barbosa PS, Júnior Salmon, Sant'Anna. Effect of therapeutic doses of radiotherapy on the organic and inorganic contents of the deciduous enamel: an in vitro study. **Clin Oral Invest**. 2016; 20(8):1953-61.

9. Freitas DA, Caballero AD, Pereira MM, Oliveira SKM, Silva GP, Hernandez CIV. Sequelas bucais da radioterapia de cabeça e pescoço. **Rev Cefac**. 2011;13(6).
10. Gonçalves LM, Palma-Dibb RG, Paula-Silva FW, Oliveira HF, Nelson-Filho P, Silva LA, Queiroz AM. Radiation therapy alters microhardness and microstructure of enamel and dentin of permanent human teeth. **J Dent**. 2014;42(8):986-92.
11. INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil/ Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva**. Rio de Janeiro: INCA, 2017, 128 p.
12. Jawad H, Hodson NA, Nixon PJ. 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. Junqueira L. C.; Carneiro, J.; Abrahamssohn P. **Histologia básica: texto e atlas**. 13^a ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2017.
14. Kielbassa AM, Hinkelbein W, Hellwig E, Meyer-Lückel H. Radiation-related damage to dentition. **Lancet Oncol**. 2006;7(4):326-35.
15. Kumar M, Nanavati R, Modi TG, Dobariya C. Oral cancer: etiology and risk factors: a review. **J Can Res Ther**. 2016;12:458-63.
16. Liang X, Zhang JY, Cheng IK, Li JY. Effect of high energy X-ray irradiation on the nano-mechanical properties of human enamel and dentine. **Bras Oral Res**. 2016;30:e9. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0009.
17. Lieshout HF, Bots CP. The effect of radiotherapy on dental hard tissue - a systematic review. **Clin Oral Invest**. 2014;18(1):17-24.
18. Lopes CCA, Limirio PHJO, Novais VR, Dechichi P. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) application chemical characterization of enamel, dentin and bone. **Appl Spectrosc Rev**. 2018;53:747-69. doi: 10.1080/05704928.2018.1431923.
19. Lopes CCA, Soares CJ, Lara VC, Arana-Chavez VE, Soares PV, Novais VR. Effect of fluoride application during radiotherapy on enamel demineralization. **J Appl Oral Sci**. 2018. doi: 10.1590/1678-7757-2018-0044.

20. Lu H, Zhao Q, Guo J, Zeng B, Yu X, Yu D, Zhao W. Direct radiation-induced effects on dental hard tissue. **Radiat Oncol.** 2019;14(1):5. doi: 10.1186/s13014-019-1208-1.
21. McGuire JD, Mousa AA, Zhang BJ, Todoki LS, Huffman NT, Chandrababu KB, Moradian-Oldak J, Keightley A, Wang Y, Walker MP, Gorski JP. Extracts of irradiated mature human tooth crowns contain MMP-20 protein and activity. **J Dent.** 2014;42(5):626-35.
22. Mellara TS, Palma-Dibb RG, Oliveira HF, Paula-Silva FWG, Nelson-Filho P, Silva RAB, Silva LAB, Queiroz AM. The effect of radiation therapy on the mechanical and morphological properties of the enamel and dentin of deciduous teeth - an vitro study. **Radiat Oncol.** 2014;9(30):1-7.
23. 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):3351-3358
24. Nanci A. **Ten Cate histologia oral: desenvolvimento, estrutura e função.** 8ª ed. Elsevier, Rio de Janeiro, 2013.
25. 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.
26. Novais VR, Soares PB, Guimarães CM, Schliebe LR, Braga SSL, Soares CJ. Effect of gamma radiation and endodontic treatment on mechanical properties of human and bovine root dentin. **Braz Oral Res.** 2016;27(6):670-4.
27. Pereira AA. **Alterações químicas e físicas de tecidos duros irradiados por laser de neodímio chaveado.** [tese] São Paulo; Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN/CNEN-SP; 2003.
28. Qing P, Huang S, Gao S, Qian L, Yu H. Effect of gamma irradiation on the wear behavior of human tooth dentin. **Clin Oral Invest.** 2016;20(9):2379-86.
29. Qing P, Huang S, Gao S, Qian L, Yu H. Effect of gamma irradiation on the wear behavior of human tooth enamel. **Sci Rep.** 2015;5:1-9.
30. Rades D, Janssen S, Bajrovic A, Strojjan P, Schild SE. A Total Radiation Dose of 70 Gy Is Required After Macroscopically Incomplete Resection

- of Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. **Anticancer Res.** 2016; 36(6):2989-2992
31. Reed R, Xu C, Liu Y, Gorski JP, Wang Y, Walker MP. Radiotherapy effect on nano-mechanical properties and chemical composition of enamel and dentine. **Arch Oral Biol.** 2015;60(5):690-7.
 32. Rodrigues RB, Soares CJ, Simamoto Junior PC, Lara VC, Arana-Chaves VE, Novais VR. Influence of radiotherapy on the dentin properties and bond strenght. **Clin Oral Invest.** 2018;22(2):875–83.
 33. Roy P, Saikia B. Cancer and cure: a critical analysis. **Indian J Cancer.** 2016;53(3):441-2.
 34. Sa Y, Liang S, Ma X, Lu S, Wang Z, Jiang T, Wang Y. Compositional, structural and mechanical comparisons of normal enamel and hypomaturation enamel. **Acta Biomater.** 2014;10(12):5169-77.
 35. Santin GC, Palma-Dibb RG, Romano FL, Oliveira HF, Nelson-Filho P, Queiroz AM. Physical and adhesive properties of dental enamel after radiotherapy and bonding of metal and ceramic brackets. **Am J Orthod Dentofacial Orthop.** 2015;148(2):283-92.
 36. Santin GC, Queiroz AM, Palma-Dibb RG, Oliveira HF, Nelson Filho P, Romano FL. Glass ionomer cements can be used for bonding orthodontic brackets after cancer radiation treatment? **Braz Dent J.** 2018;29(2):128-32.
 37. Seyedmahmoued R, Wang Y, Thiagarajan G, Gorski JP, Reed Edwards R, McGuire JD, Walker MP. Oral cancer radiotherapy affects enamel microhardness and associated indentation pattern morphology. **Clin Oral Investig.** 2018;22(4): 1795-803.
 38. Soares CJ, Castro CG, Neiva NA, Soares PV, Santos-Filho PCF, Naves LZ, Pereira PN. Effect of gamma irradiation on ultimate tensile strength of enamel and dentin. **J Dent Res.** 2010;89(2):159-64.
 39. Soares CJ, Neiva NA, Soares PB, Dechichi P, Novais VR, Naves LZ, Marques MR. Effects of chlorhexidine and fluoride on irradiated enamel and dentin. **J Dent Res.** 2011;90(5):659-64.
 40. Velo MMAC, Farha ALH, Silva Santos PS, Shiota A, Sansavino SZ, Souza AT, Honório HM, Wang L. Radiotherapy alters the composition,

- structural and mechanical properties of root dentin in vitro. **Clin Oral Investig**. 2018;22(8):2871-8.
- 41.Villa A, Akintoye SO. Dental management of patients who have undergone oral cancer therapy. **Dent Clin North Am**. 2018;62(1):131-42.
- 42.Walker MP, Wichman B, Cheng AL, Coster J, Williams KB. Impact of radiotherapy dose on dentition breakdown in head and neck cancer patients. **Pract Radiat Oncol**. 2011;1(3):142-8.
- 43.Xu C, Reed R, Gorski JP, Wang Y, Walker MP. The distribution of carbonate in enamel and its correlation with structure and mechanical properties. **J Mater Sci**. 2012;47(23):8035-43.
- 44.Yadav S, Yadav H. Ionizing irradiation affects the microtensile resin dentin bond strenght under simulated clinical conditions. **J Conserv Dent**. 2013;16(2):148-51.
- 45.Zhao B, Maquilan G, Jiang S, Schwartz DL. Minimal mask immobilization with optical surface guidance for head and neck radiotherapy. **J Appl Clin Med Phys**. 2018; 19(1): 17-24