

## EFEITOS IN SITU DA RADIOTERAPIA DE CABEÇA E PESCOÇO NA MICROESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DE DENTES HUMANOS



<https://doi.org/10.56238/arev6n4-461>

Data de submissão: 28/11/2024

Data de publicação: 28/12/2024

### **Cesar dos Reis Perez**

DDS, MS, ScD, Departamento de Prótese  
Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)  
E-mail: [profcrp66@gmail.com](mailto:profcrp66@gmail.com)  
ORCID: 0000-0001-9640-1578  
LATTES: <http://lattes.cnpq.br/2172199127768624>

### **Marianna Sorozini de Miranda**

DDS, MS, ScD, Departamento de Prótese  
Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)  
E-mail: [mari.sorozini@gmail.com](mailto:mari.sorozini@gmail.com)  
ORCID: 0000-0001-0931-5207  
LATTES: <http://lattes.cnpq.br/4957345103864409>

### **Paulo Henrique dos Santos Belo Júnior**

MS, ScD, Departamento de Prótese  
Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)  
E-mail: [paulobeloo@hotmail.com](mailto:paulobeloo@hotmail.com)  
ORCID: 0000-0001-5486-4937  
LATTES: <http://lattes.cnpq.br/5375621457956014>

### **Gustavo Miranda Rocha**

Pós-Doutoranda em Biologia pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)  
E-mail: [mirandarocha@gmail.com](mailto:mirandarocha@gmail.com)  
ORCID: 0000-0001-5768-9791  
LATTES: <http://lattes.cnpq.br/7707535577033465>

### **Nancy de Assis Ferreira**

MS, ScD, Departamento de Prótese  
Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)  
E-mail: [nancy.assis64@gmail.com](mailto:nancy.assis64@gmail.com)  
ORCID: 0009-0002-1046-0361  
SLATS: <http://lattes.cnpq.br/3010038326202615>

### **Ramon Silva dos Santos**

Instituto de Física da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)  
E-mail: [ramonziosp@yahoo.com.br](mailto:ramonziosp@yahoo.com.br)  
ORCID: 0000-0001-9443-9062  
LATTES: <http://lattes.cnpq.br/856313216233175>

**Marcelino José dos Anjos**

Instituto de Física da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

E-mail: marcelin@uerj.br

ORCID: 0000-0003-4227-2138

LATTES: <http://lattes.cnpq.br/8175635608970623>

## RESUMO

A radioterapia de cabeça e pescoço apresenta efeitos colaterais relevantes. Este trabalho teve como objetivo avaliar possíveis modificações composicionais in vivo por meio de fluorescência de micro-raios X (m-XRF) e alterações morfológicas por meio de microscopia de força atômica (AFM) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) de esmalte e dentina causadas pela exposição à radiação relacionada ao câncer de cabeça e pescoço. Foram obtidos seis pré-molares inferiores bem preservados com perda mínima de estrutura de três pacientes submetidos à radioterapia. Um grupo controle com seis pré-molares inferiores obtidos de dentes semelhantes extraídos para indicações periodontais foi utilizado para comparar os resultados da análise. A análise composicional considerou os elementos fósforo (P), cálcio (Ca), zinco (Zn), estrôncio (Sr) e a relação Ca/P. As avaliações compreenderam o esmalte superficial (SE), a junção esmalte-dentina (EDJ), a dentina média (MD) e a dentina profunda (DD). A análise composicional considerou os elementos fósforo (P), cálcio (Ca), zinco (Zn), estrôncio (Sr) e a relação Ca/P. O teste T de amostras independentes foi usado para avaliar as diferenças de composição entre os grupos controle e irradiado ( $P < 0,05$ ). Os resultados mostraram diferenças estatisticamente significativas considerando Ca (EDJ, MD e DD), Zn (SE) e Sr (SE, EDJ e MD). As alterações morfológicas mais notáveis foram no esmalte superficial. Os resultados apresentados demonstram alterações significativas nos dentes irradiados. Esses resultados incentivam a busca de métodos para reduzir os efeitos diretos da radiação na estrutura dentária e o desenvolvimento de estratégias de intervenção preventiva que promovam menos danos.

**Palavras-chave:** Micro-Fluorescência de Raios-X. Radioterapia. Microscopia Eletrônica de Varredura. Microscopia de Força Atômica. Cárie dentária.

## 1 INTRODUÇÃO

A radiação ionizante danifica os tecidos normais dentro dos campos de irradiação (Vissink et al., 2003). Mucosite e hipossalivação irreversível devido à função prejudicada das glândulas salivares, osteorradionecrose e cárie por radiação estão entre eles (Chambers et al., 2004; Kudkuli et al., 2019; Lieshout & Bots, 2014). Os efeitos da radioterapia no início e progressão de uma lesão de cárie podem ser diretos ou indiretos (Kielbassa et al., 2006). A cárie por radiação é um efeito colateral crônico da radioterapia de cabeça e pescoço com alto potencial de destruição dentária, principalmente por delaminação. Tem sido debatido se a cárie por radiação é devida a um efeito direto ou indireto da irradiação nos dentes ou ambos. Vários estudos têm alegado que a irradiação causa efeitos diretos na estrutura dental, incluindo alterações na estrutura cristalina, microdureza do esmalte e da dentina, junção dentina-esmalte (JDE) e solubilidade ácida do esmalte; esses efeitos podem estar envolvidos na patogênese da doença (Douchy et al., 2022; Fonseca et al., 2020). O início clínico da cárie relacionada à radiação geralmente afeta as áreas cervicais, bordas incisais e taças, com as superfícies dentárias tornando-se escuras ou marrons (Silva et al., 2009).

Os efeitos indiretos da irradiação incluem alterações na qualidade e quantidade da saliva, dificuldade em realizar uma higiene bucal adequada, aumento da ingestão de alimentos cariogênicos e alterações na microbiota oral (Kielbassa et al., 2006; Silva et al., 2009; Toletino et al., 2012; Vissink et al., 2003).

Apesar do recente desenvolvimento de novas tecnologias que podem diminuir os volumes de radiação e, de acordo com a localização do tumor, evitar melhor os tecidos normais da cavidade oral, a destruição dos tecidos dentários, principalmente quando os dentes estão diretamente na área irradiada, ainda é maciça (Luka et al., 2024; Miranda et al., 2021; Muñoz et al., 2020; Silva et al., 2004). Os efeitos da radiação *in situ* ainda não são completamente conhecidos.

Diferentes técnicas têm sido utilizadas para analisar possíveis modificações composicionais (por meio de microespectroscopia Raman (Kudkuli et al., 2019), Western blotting (Bartel-Friedrich et al., 2000), espectroscopia de dispersão de elétrons (EDS) (Kudkuli et al., 2019), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) (Miranda et al., 2021) e difração de raios X (XRD), mecânica (por meio de micro e nanoindentação) (Miranda et al., 2021; Reed et al., 2015) e morfológicas (microscopia confocal (MC), microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Silva et al., 2010; Wu et al., 2020), tomografia de coerência óptica (OCT) e microscopia de força atômica (AFM)).

Estudos que analisam em profundidade as *alterações estruturais in vivo* são raros, pois os dentes presentes na região que será irradiada diretamente são extraídos profilaticamente devido a um prognóstico ruim, à alta probabilidade de causar problemas futuros, como destruição muito rápida e

extensa, e evitar a extração após a radioterapia devido ao risco de osteorradionecrose. Por outro lado, nos casos em que os dentes são mantidos, quase sempre estão bastante danificados, com extensa perda tecidual, tornando quase impossível uma análise completa.

Neste estudo, tivemos a rara oportunidade de examinar três casos semelhantes em que os pacientes mantinham dentes (pré-molares inferiores) que foram submetidos à radioterapia e apresentavam comprometimento periodontal irreversível, mas estavam praticamente intactos. Devido à perda óssea periodontal completa (os dentes foram fixados apenas por tecidos moles), a extração foi realizada com risco mínimo. Aproveitando a excepcional preservação dos dentes, eles foram analisados para observar alterações estruturais em seu esmalte e dentina. As mesmas análises foram realizadas em dentes semelhantes obtidos do Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Estes foram extraídos devido a problemas periodontais, mas não foram submetidos a radioterapia.

A radiação ionizante danifica os tecidos normais dentro dos campos de irradiação (Vissink et al., 2003). Mucosite e hipossalivação irreversível devido à função prejudicada das glândulas salivares, osteorradionecrose e cárie por radiação estão entre eles (Chambers et al., 2004; Kudkuli et al., 2019; Lieshout & Bots, 2014). Os efeitos da radioterapia no início e progressão de uma lesão de cárie podem ser diretos ou indiretos (Kielbassa et al., 2006). A cárie por radiação é um efeito colateral crônico da radioterapia de cabeça e pescoço com alto potencial de destruição dentária, principalmente por delaminação. Tem sido debatido se a cárie por radiação é devida a um efeito direto ou indireto da irradiação nos dentes ou ambos. Vários estudos têm alegado que a irradiação causa efeitos diretos na estrutura dental, incluindo alterações na estrutura cristalina, microdureza do esmalte e da dentina, junção dentina-esmalte (JDE) e solubilidade ácida do esmalte; esses efeitos podem estar envolvidos na patogênese da doença (Douchy et al., 2022; Fonseca et al., 2020). O início clínico da cárie relacionada à radiação geralmente afeta as áreas cervicais, bordas incisais e taças, com as superfícies dentárias tornando-se escuras ou marrons (Silva et al., 2009). Os efeitos indiretos da irradiação incluem alterações na qualidade e quantidade da saliva, dificuldade em realizar uma higiene bucal adequada, aumento da ingestão de alimentos cariogênicos e alterações na microbiota oral (Kielbassa et al., 2006; Silva et al., 2009; Toletino et al., 2012; Vissink et al., 2003).

Apesar do recente desenvolvimento de novas tecnologias que podem diminuir os volumes de radiação e, de acordo com a localização do tumor, evitar melhor os tecidos normais da cavidade oral, a destruição dos tecidos dentários, principalmente quando os dentes estão diretamente na área irradiada, ainda é maciça (Luka et al., 2024; Miranda et al., 2021; Muñoz et al., 2020; Silva et al., 2004). Os efeitos da radiação *in situ* ainda não são completamente conhecidos.

Diferentes técnicas têm sido utilizadas para analisar possíveis modificações composicionais (por meio de microespectroscopia Raman (Kudkuli et al., 2019), Western blotting (Bartel-Friedrich et al., 2000), espectroscopia de dispersão de elétrons (EDS) (Kudkuli et al., 2019), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) (Miranda et al., 2021) e difração de raios X (XRD), mecânica (por meio de micro e nanoindentação) (Miranda et al., 2021; Reed et al., 2015) e morfológicas (microscopia confocal (MC), microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Silva et al., 2010; Wu et al., 2020), tomografia de coerência óptica (OCT) e microscopia de força atômica (AFM)).

Estudos que analisam em profundidade as *alterações estruturais in vivo* são raros, pois os dentes presentes na região que será irradiada diretamente são extraídos profilaticamente devido a um prognóstico ruim, à alta probabilidade de causar problemas futuros, como destruição muito rápida e extensa, e evitar a extração após a radioterapia devido ao risco de osteorradionecrose. Por outro lado, nos casos em que os dentes são mantidos, quase sempre estão bastante danificados, com extensa perda tecidual, tornando quase impossível uma análise completa.

Neste estudo, tivemos a rara oportunidade de examinar três casos semelhantes em que os pacientes mantinham dentes (pré-molares inferiores) que foram submetidos à radioterapia e apresentavam comprometimento periodontal irreversível, mas estavam praticamente intactos. Devido à perda óssea periodontal completa (os dentes foram fixados apenas por tecidos moles), a extração foi realizada com risco mínimo. Aproveitando a excepcional preservação dos dentes, eles foram analisados para observar alterações estruturais em seu esmalte e dentina. As mesmas análises foram realizadas em dentes semelhantes obtidos do Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Estes foram extraídos devido a problemas periodontais, mas não foram submetidos a radioterapia.

## 2 METODOLOGIA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Estudos com Seres Humanos da UERJ (protocolo nº 84880117.2.0000.5259), seguindo as recomendações do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde do Brasil para pesquisa com seres humanos. O consentimento informado foi obtido dos doadores.

Esta pesquisa foi realizada no Centro de Controle do Câncer do Hospital Universitário Pedro Ernesto - UERJ. Seis pré-molares permanentes humanos (dois de cada paciente) foram indicados para extração devido às suas condições periodontais. A Tabela 1 mostra os principais aspectos clínicos dos dentes extraídos dos pacientes irradiados. Após a extração, os dentes foram armazenados em água destilada a 4°C.

**TABELA 1.** Principais aspectos clínico-patológicos de pacientes com câncer de cabeça e pescoço submetidos à radioterapia tridimensional

Paciente	Gênero	Idade (anos)	Localização do tumor	Tratamento	Diagnóstico	Dose total de radiação (Gy)
1	Fêmea	62	Língua	Cirurgia + radioterapia	Carcinoma de células escamosas, Código Internacional de Doenças 10 C02	50
2	Fêmea	65	Assoalho da boca	Cirurgia + radioterapia	Carcinoma de células escamosas, Código Internacional de Doenças 10 C02	50
3	Macho	66	Assoalho da boca	Cirurgia + radioterapia	Carcinoma de células escamosas, Código Internacional de Doenças (IDC) 10 C02	50

Os outros seis pré-molares inferiores foram obtidos de pacientes de idade semelhante que não foram tratados por radioterapia (grupo não irradiado) e foram extraídos por problemas periodontais. Estes foram obtidos do Banco de Dentes Humanos de nossa escola para comparar diferenças estruturais e de composição.

## 2.1 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA

Após um estudo piloto, um tamanho de efeito de 0,3 e um desvio padrão de 0,2 foram estimados. Esses valores foram inseridos no software G\*Power (ver. 3.1.9.7; Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Alemanha) juntamente com uma taxa de erro do tipo alfa de 5% e uma potência beta de 80%. O software indicou que seis amostras por grupo seriam suficientes para observar um efeito significativo.

## 2.2 ANÁLISE M-XRF

Os seguintes elementos foram analisados dos grupos irradiado e controle: cálcio (Ca), fósforo (P), estrôncio (Sr) e zinco (Zn). A relação Ca/P também foi observada. Foram analisadas quatro profundidades da estrutura dental: o esmalte superficial (SE), que está sujeito a fenômenos cariogênicos; a junção esmalte-dentina (EDJ), onde é relatada alta incidência de descolamento após radioterapia; a dentina média (MD) e a dentina profunda (DD).

A distribuição elementar de ambos os grupos de amostras dentárias foi mapeada por meio da técnica  $\mu$ -XRF usando o equipamento M4 Tornado da Bruker. O M4 Tornado possui um tubo de raios X com um ânodo Rh, um policapilar com um tamanho de ponto de 25  $\mu$ m e um detector de desvio de silício (SDD) com resolução de 142 eV para Mn-K $\alpha$ . O mapeamento da amostra foi realizado usando

uma tensão e corrente de 45 kV e 600 mA, respectivamente, um filtro de Al de 12,5  $\mu\text{m}$ , um tamanho de pixel de 50  $\mu\text{m}$  com um tempo de medição de 30 ms por pixel sob um vácuo de 20 mbar. A análise foi realizada em 4 áreas de cada fragmento dentário: o esmalte superficial, DEJ e a dentina média e profunda.

## 2.3 MEDIDAS DO AFM

Os dentes foram seccionados e metade dos grupos não irradiados e irradiados foram analisados. Para remover os detritos das amostras, eles foram limpos por 5 minutos usando um limpador ultrassônico e secos com um baixo jato de gás argônio antes das medições de AFM.

As superfícies secas foram fotografadas usando microscopia de sonda de varredura Dimension Icon (Bruker, Santa Barbara, CA, EUA) usando o modo de imagem PeakForce Tapping. As constantes elásticas do balanço foram obtidas usando o método do ruído térmico. Sondas de ponta rotativa (constante nominal de mola 200 N/m, RTESPA, Bruker, Santa Bárbara, CA, EUA) foram usadas com baixa taxa de varredura. As imagens foram adquiridas com resolução de  $512 \times 512$  pixels, e o processamento da imagem (somente achatamento em linha) foi realizado usando o software NanoScope Analysis (Bruker, Santa Barbara, CA, EUA). Para melhor visualização topográfica, as imagens de altura foram exibidas como vistas 3D.

Após a obtenção das imagens do esmalte externo, a porção interna de cada metade foi submetida ao planejamento amostral com granulação decrescente usando papéis de carboneto de silício (grão 200, 400, 600, 1200 e 2000 por 15 s cada) em uma máquina de polimento e condicionamento ácido com ácido fosfórico a 37% por 30 s. As amostras foram enxaguadas por 60 segundos para expor a estrutura. Imediatamente antes das novas medições, as amostras foram limpas com banho ultrassônico por cinco minutos e depois secas.

## 2.4 ANÁLISE DO MEV

Para analisar as alterações morfológicas nos tecidos dentários, cortes de cada dente de ambos os grupos foram cobertos com ouro em uma máquina de metalização a vácuo (SCD 050, Bal-Tec AG, Balzers, Liechtenstein) a uma pressão de 0,01 mbar, corrente de 40 mA, distância de trabalho de 50 mm, tempo de revestimento de 90 segundos e espessura média de revestimento de 20 a 30 nm. As imagens foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura de baixo vácuo (MEV) usando a técnica de retroespalhamento de elétrons (15kV, TM3030Plus Tabletop Microscope, Hitachi, Tóquio, Japão).



## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov foram utilizados para verificar a distribuição normal e a homocedasticidade dos dados. Todos os dados apresentaram uma distribuição paramétrica (normal).

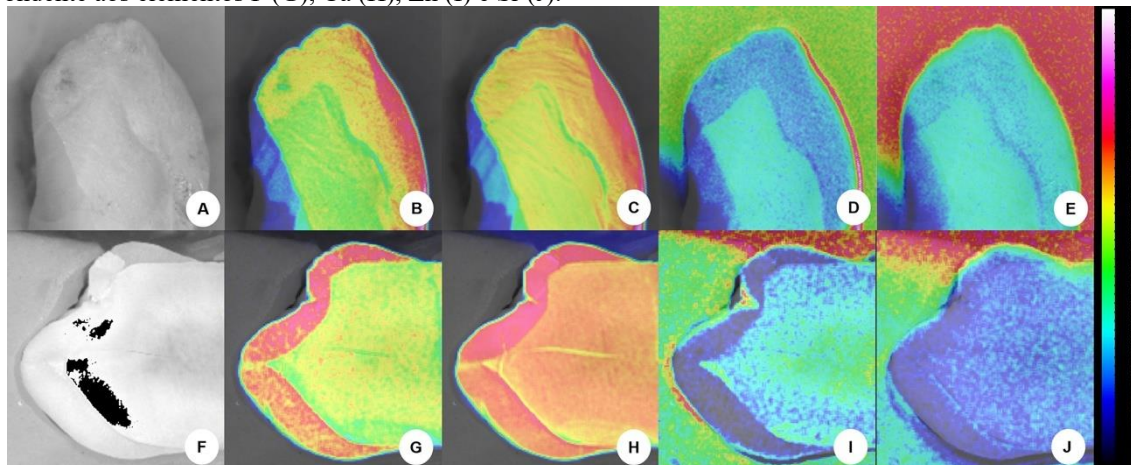
As diferenças observadas entre os grupos controle e irradiado em todas as profundidades por meio de  $\mu$ -XRF foram analisadas estatisticamente considerando um nível de significância de 5% usando o teste T de amostras independentes com SPSS for Windows, versão 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

## 3 RESULTADOS

### 3.1 ANÁLISE M-XRF

A Figura 1 mostra as imagens obtidas a partir da distribuição dos elementos P, Ca, Zn e Sr em um dente do grupo controle e um dente do grupo irradiado.

**FIGURA 1:** Imagens obtidas via  $\mu$ -XRF de um corpo de prova seccionado do grupo controle (A) correspondente aos elementos P (B), Ca (C), Zn (D) e Sr (E) e, analogamente, um corpo de prova seccionado do grupo irradiado (F) correspondente aos elementos P (G), Ca (H), Zn (I) e Sr (J).



O uso da análise m-XRF permitiu demarcar quatro pontos representando diferentes profundidades: SE, EDJ e MD, que representavam metade da espessura da dentina, e o DD, que representava um ponto demarcado 0,5 mm abaixo do teto da câmara pulpar.

A Tabela 2 mostra os resultados dos quais o teste T para amostras independentes revelou diferenças estatisticamente significativas nos elementos dos grupos controle e irradiado nas quatro profundidades específicas. Ca e Zn apresentaram diferenças significativas no SE e Sr em todas as profundidades ( $P < 0,05$ ).



**TABELA 2** Dados (média e desvio-padrão) comparando o grupo controle (não irradiado) com o grupo irradiado dos elementos Ca, P, Zn e Sn, e a relação Ca/P, considerando o esmalte superficial e a junção dentina-esmalte (dentina superficial), dentina média e dentina profunda.

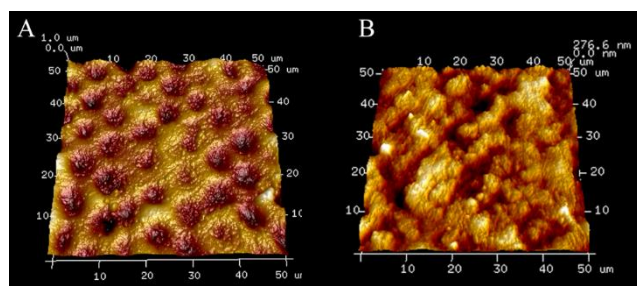
	Terapia	Ca (%)	P (%)	Zn (ppm)	Sr (ppm)	Relação Ca/P
Esmalte superficial	Controle	28,33 ± 4,18a	16,67 ± 2,42a	457,00 ± 25,02A	82,67 ± 26,83A	1,70 ± 0,17a
	Irradiados	29,33 ± 1,63a	15,00 ± 1,55a	146,00 ± 13,43a	153,00 ± 40,00A	1,69 ± 0,40a
Junção dentina-esmalte	Controle	24,17 ± 2,32B	13,33 ± 1,21b	24,17 ± 2,31b	132,50 ± 16,32B	1,79 ± 0,83b
	Irradiados	29,67 ± 1,75b	14,67 ± 1,03b	26,50 ± 2,07b	70,50 ± 28,61b	1,78 ± 0,69b
Dentina média	Controle	25,17 ± 1,17C	14,00 ± 0,89c	25,17 ± 1,17c	164,00 ± 27,96C	1,83 ± 0,23c
	Irradiados	28,17 ± 1,17c	13,17 ± 0,98c	24,83 ± 2,14c	121,67 ± 23,20c	1,86 ± 0,19c
Dentina profunda	Controle	24,83 ± 1,33D	13,50 ± 1,05d	24,83 ± 1,33d	163,67 ± 16,93d	1,83 ± 0,03d
	Irradiados	28,17 ± 1,17d	13,17 ± 1,83d	24,50 ± 2,35d	206,17 ± 38,78d	1,88 ± 0,11d

*Nota:* As mesmas letras sobrescritas foram utilizadas para cada região analisada. Quando houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), o grupo controle foi marcado com letra maiúscula e o grupo irradiado com letra minúscula.

### 3.2 ANÁLISE DO AFM

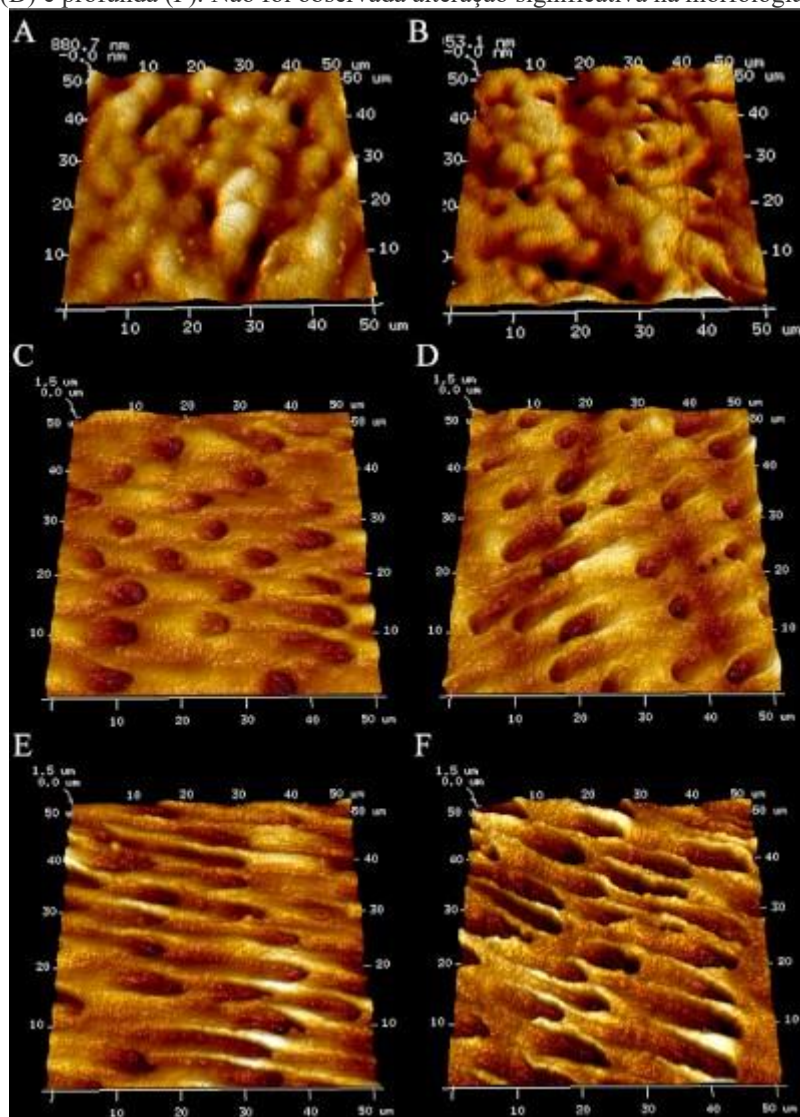
Modificações morfológicas entre os grupos irradiados e não irradiados foram observadas no esmalte. Diferentemente do padrão prismático na superfície externa do esmalte no grupo não irradiado, houve uma mudança expressiva nesse padrão no grupo irradiado (Figura 3).

**FIGURA 3.** Imagens AFM do esmalte não irradiado (A) e do esmalte irradiado (B). Observou-se uma evidente modificação do padrão prismático.



Não foi observada junção dentina-esmalte em ambos os grupos, pois houve um descolamento entre os dois tecidos. Não foi observada alteração na morfologia da dentina em suas áreas superficial, média ou profunda (Figura 4).

**FIGURA 4.** Imagens AFM da dentina não irradiada, superficial (A), média (C) e profunda (E), e da dentina irradiada, superficial (B), média (D) e profunda (F). Não foi observada alteração significativa na morfologia da dentina.



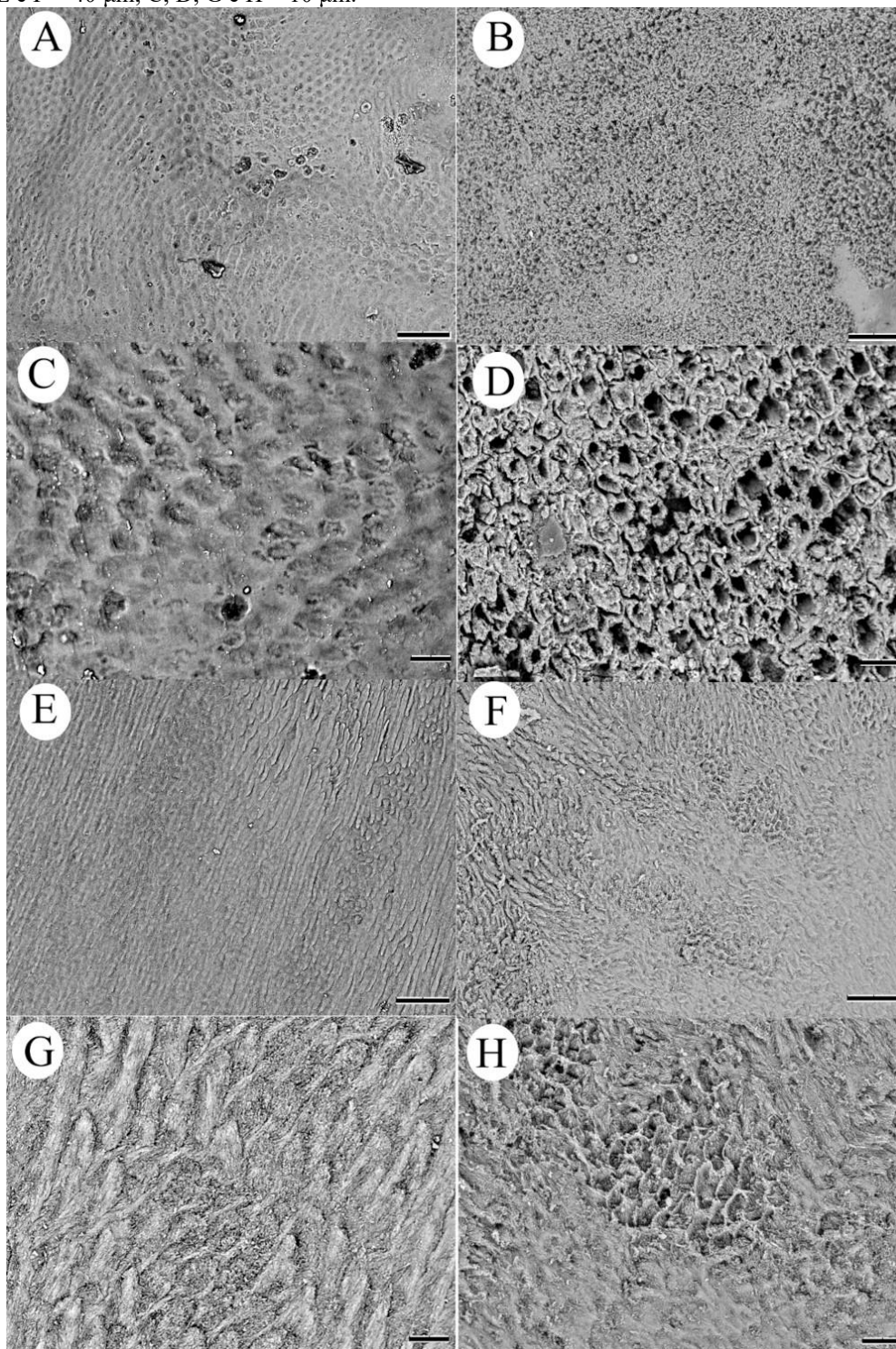
### 3.3 ANÁLISE DO MEV

Modificações morfológicas entre os grupos irradiados e não irradiados foram observadas no esmalte. As imagens foram obtidas dos prismas de esmalte e do esmalte interprismático. No esmalte superficial do grupo não irradiado, a estrutura prismática formou padrões diferentes dependendo da orientação dos prismas (Figura 5A). Em contraste, o esmalte externo sem areia e polimento do grupo irradiado estava desorganizado e diferia do padrão prismático usual. A estrutura prismática estava completamente exposta. Muitos prismas perderam a porção central de suas cabeças (Figura 5B). Os prismas expostos estavam em diferentes direções, longitudinalmente ou em suas cabeças, na porção interna do esmalte no grupo não irradiado após corte, acabamento, polimento e condicionamento com



ácido fosfórico (Figuras 5C e 5E). No entanto, na parte interna do esmalte dos dentes irradiados, houve uma exposição sutil e menos característica das porções fibrilares ou cristais (Figuras 5D e 5F).

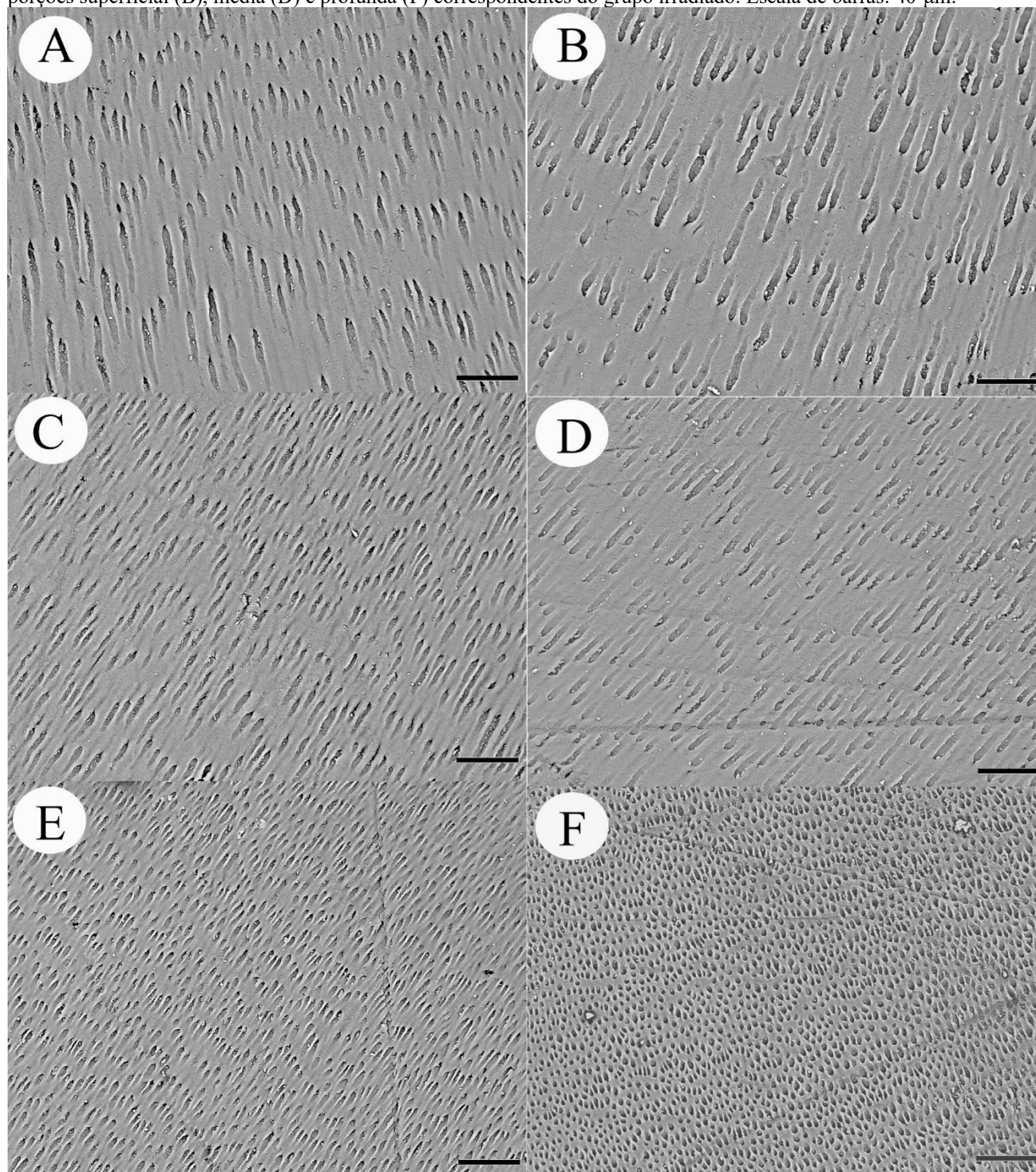
**FIGURA 5.** Micrografias de MEV do esmalte externo do grupo não irradiado (A, C, E e G) e do grupo irradiado (B, D, F e H) em duas ampliações diferentes. O esmalte não foi polido e polido em A, B, C e D, mas em E, F, G e H. Escala de barras: A, B, E e F = 40  $\mu$ m; C, D, G e H = 10  $\mu$ m.





A análise da dentina não detectou alterações visíveis em suas partes superficial (Figura 6A), média (6C) e profunda (Figura 6E) no grupo não irradiado para as áreas superficiais (Figura 6B), médias (Figura 6D) e profundas (Figura 6F) correspondentes do grupo irradiado.

**FIGURA 6.** Micrografias de MEV das porções superficial (A), média (C) e profunda (E) do grupo não irradiado para as porções superficial (B), média (D) e profunda (F) correspondentes do grupo irradiado. Escala de barras: 40  $\mu$ m.



#### 4 DISCUSSÃO

A cárie por radiação é um dos efeitos mais relevantes da irradiação na região da cabeça e pescoço, causando destruição severa do esmalte dentário e da dentina, afetando sua qualidade de vida (Douchy et al., 2022; Kielbassa et al., 2006; Toletino et al., 2011; Vissink et al., 2019). A cárie dentária pós-irradiação é predominantemente considerada como um efeito indireto causado principalmente pela redução da taxa de fluxo salivar. Por outro lado, vários estudos têm fundamentado a ideia de que a formação de padrões recorrentes e atípicos de cárie dentária em dentes irradiados não se deve apenas à perda de saliva, mas a uma combinação de hipossalivação e efeitos diretos no tecido dentário duro (Douchy et al., 2022; Fonseca et al., 2020; Kudkuli et al., 2019; Lieshout et al., 2014; Miranda et al., 2021; Muñoz et al., 2020; Silva et al., 2009; Silva et al., 2010; Toletino et al., 2011). Além disso, a formação de cárie atípica é aumentada devido à má higiene bucal, aumento de substâncias moles e ricas em carboidratos e alterações na microflora bacteriana e nas proteínas. A cárie por radiação pode se desenvolver repentinamente, levando à amputação de coroas e à perda completa da dentição (Abed et al., 2023; Lanzetti et al., 2023; Luka et al., 2024; Monteiro et al., 2024).

A experiência clínica motivou este trabalho mais do que qualquer outro motivo. Não se pode simplesmente ignorar depoimentos de profissionais que vivenciam o contato com pacientes submetidos à radioterapia de cabeça e pescoço e relatam as características clínicas únicas da doença e a aparência dos tecidos dentários. No presente estudo, os pacientes apresentavam estágio clínico avançado da doença e foram tratados com altas doses de radiação ionizante por meio de aceleradores lineares e os planos de tratamento foram baseados em radioterapia conformada tridimensional. Assim, os pacientes também receberam altas doses de radiação em seus dentes pré-molares, que foram incluídos no campo de radiação do tumor primário (Kielbassa et al., 2006; Silva et al., 2010). É importante ressaltar que o presente estudo foi baseado em uma situação muito específica que envolveu o aproveitamento da rara oportunidade de analisar dentes submetidos a altas doses de radiação *in situ*. Os dentes estavam praticamente intactos, sem perda maciça de estrutura. Os pré-molares foram os últimos remanescentes e periodontalmente comprometidos, com fixação apenas nos tecidos moles. A extração era inevitável e não causava risco de complicações.

O  $\mu$ -XRF é uma técnica não destrutiva frequentemente usada para obter informações sobre a distribuição elementar de diferentes tipos de amostras geológicas, arqueométricas, ósseas e dentárias e ambientais (Bali et al., 2021; Pessanha et al., 2016). Apresentou modificações significativas na composição dos tecidos dentários em diferentes profundidades. O Ca apresentou maior concentração no grupo irradiado na junção do esmalte dentinário ( $P = 0,01$ ), provavelmente devido ao processo de desmineralização ocorrer com maior severidade na superfície externa. Da mesma forma, o mesmo



ocorreu com P. No entanto, as diferenças mais significativas foram encontradas nos microelementos Zn e Sr. Zn apresentou queda significativa no esmalte superficial no grupo irradiado, enquanto Sr apresentou aumento em todas as profundidades analisadas no grupo irradiado. Os primeiros estudos cariológicos postularam que a captação de Sr e Zn ocorre antes da erupção, provavelmente durante a formação do dente (Brudevold et al., 1975; Palamara et al., 1986). Estudos mais recentes têm buscado uma compreensão mais completa da participação desses microelementos na formação e remineralização das lesões de cárie e sua relevância na composição de dentifrícios anticárie e antitártaro (Riyat et al., 2009; Shashikiran et al., 2007). Eles descobriram que a composição do esmalte não é estática; muda constantemente. No dente cariado, a composição química do esmalte é alterada devido à desmineralização, e certos elementos podem ser incorporados em lesões cariadas de fontes naturais, que auxiliam na remineralização. Portanto, as concentrações de oligoelementos em dentes normais e cariados podem ser diferentes (Ingram et al., 1992).

Devido à sua semelhança com o Ca, o Sr atraiu um interesse considerável da comunidade de pesquisa relacionada à cárie e cárie, atingindo o pico nas décadas de 1970 e 1980 (Lippert et al., 2013).

A maioria das pesquisas descreveu um aumento no Zn e uma diminuição no Sr nas lesões cariadas. Neste estudo, no entanto, observou-se o contrário. Uma queda significativa no teor de Zn no esmalte superficial e um aumento uniforme no teor de Sr foram observados no grupo irradiado. Embora algumas pesquisas tenham encontrado um aumento no conteúdo de Sr (Saiki et al., 2009), a grande maioria cita uma diminuição (Ortiz et al., 2014; Shashikiran et al., 2007). Observou-se uma alteração no conteúdo de certos elementos após a radioterapia e uma composição diferente da esperada em situações de desafio cariogênico. Assim, pode-se especular que a radiação influencia a composição dos tecidos dentários duros e que essas alterações na composição não são resultado de um desafio cariogênico convencional.

## **5 CONCLUSÃO**

A radioterapia influenciou a composição do tecido duro dos dentes. Considerando os resultados obtidos com as diferentes análises, as alterações mais significativas foram observadas no esmalte superficial e na junção dentinária do esmalte. No entanto, estes podem ter sido mais influenciados indiretamente por desafios cariogênicos. A composição de Ca, Zn e Sr foi significativamente modificada.  $\mu$ -XRF mostrou-se um método eficiente para avaliação de microelementos.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à CAPES e à FAPERJ pelo apoio científico.



## REFERÊNCIAS

- ABED, H. Dental considerations for head and neck cancer: A clinical review. *The Saudi Dental Journal*, v. 35, n. 5, p. 476-486, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2023.05.009>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- BALI, V. et al. Elemental studies and mapping of cholesterol and pigment all stones using scanning electron microscopy–energy dispersive spectroscopy. *X-Ray Spectrometry*, v. 53, n. 6, p. 487-498, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/xrs.3403498>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- BARTEL-FRIEDRICH, S.; FRIEDRICH, R. E.; LAUTENSCHLÄGER, C.; HOLZAUSEN, H. J. Dose-response relationships and the effect of age and latency period on the expression profile of laminin in irradiated rat mandibular glands. *Anticancer Research*, v. 20, n. 6D, p. 5221-5228, 2000.
- BRUDEVOLD, F.; REDA, A.; AASENDEN, R.; BAKHOS, Y. Determination of trace elements in surface enamel of human teeth by a new biopsy procedure. *Archives of Oral Biology*, v. 20, n. 10, p. 667-673, 1975. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(75\)90135-1](https://doi.org/10.1016/0003-9969(75)90135-1). Acesso em: 10 jan. 2025.
- CHAMBERS, M. S. et al. Radiation-induced xerostomia in patients with head and neck cancer: Pathogenesis, impact on quality of life, and management. *Head & Neck*, v. 26, n. 9, p. 796-807, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hed.20045>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- DOUCHY, L. et al. The effect of therapeutic radiation on dental enamel and dentin: A systematic review. *Dental Materials: Official Publication of the Academy of Dental Materials*, v. 38, n. 7, p. e181-e201, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2022.04.014>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- FONSECA, J. M. et al. The impact of head and neck radiotherapy on the dentine-enamel junction: A systematic review. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, v. 25, n. 1, p. e96-e105, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.4317/medoral.23212>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- INGRAM, G. S.; HORAY, C. P.; STEAD, W. J. Interaction of zinc with dental mineral. *Caries Research*, v. 26, n. 4, p. 248-253, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000261447>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- KIELBASSA, A. M. et al. Radiation-related damage to dentition. *The Lancet Oncology*, v. 7, n. 4, p. 326-335, 2006. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(06\)70658-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(06)70658-1). Acesso em: 10 jan. 2025.
- KUDKULI, J. et al. Spectroscopic analyses reveal radiotherapy-induced variations in elemental composition and crystallite properties of human permanent teeth enamel. *Journal of Oral Biosciences*, v. 61, n. 4, p. 207-214, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.job.2019.10.002>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- LANZETTI, J. et al. Management of Oral Hygiene in Head-Neck Cancer Patients Undergoing Oncological Surgery and Radiotherapy: A Systematic Review. *Dentistry Journal*, v. 11, n. 3, p. 83-99, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/dj11030083>. Acesso em: 10 jan. 2025.

LIESHOUT, H. F.; BOTS, C. P. The effect of radiotherapy on dental hard tissue: A systematic review. *Clinical Oral Investigations*, v. 18, n. 1, p. 17-24, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00784-013-1034-z>. Acesso em: 10 jan. 2025.

LIPPERT, F.; HARA, A. T. Strontium and caries: A long and complicated relationship. *Caries Research*, v. 47, n. 1, p. 34-49, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000343008>. Acesso em: 10 jan. 2025.

LUKA, B. et al. Preventing caries after radiotherapy to the head and neck region: A systematic review. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice*, v. 24, n. 3, p. 101989, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2024.101989>. Acesso em: 10 jan. 2025.

MIRANDA, R. R. et al. Effects of fractionation and ionizing radiation dose on the chemical composition and microhardness of enamel. *Archives of Oral Biology*, v. 121, p. 104959, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104959>. Acesso em: 10 jan. 2025.

MONTEIRO, R. V. et al. Preventive and restorative alternatives to caries by irradiation: A scoping review. *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, v. 32, n. 5, p. 327, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00520-024-08522-2>. Acesso em: 10 jan. 2025.

MUÑOZ, M. A. et al. The adverse effects of radiotherapy on the structure of dental hard tissues and longevity of dental restoration. *International Journal of Radiation Biology*, v. 96, n. 7, p. 910-918, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09553002.2020.1741718>. Acesso em: 10 jan. 2025.

ORTIZ, A. et al. Comparison of chemical elements on carious & normal premolar's enamel layers using energy dispersive X-ray spectrometer (X-ray-EDS). *Microscopy Research*, v. 2, p. Article ID 50839, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.4236/mr.2014.24010>. Acesso em: 10 jan. 2025.

PALAMARA, J. et al. Laminated zones in carious human dental enamel. *Journal of Oral Pathology*, v. 15, n. 2, p. 109-114, 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1986.tb00587.x>. Acesso em: 10 jan. 2025.

PESSANHA, S. et al. Quantitative analysis of human remains from 18th-19th centuries using X-ray fluorescence techniques: The mysterious high content of mercury in hair. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology: Organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, v. 33, p. 26-30, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2015.08.004>. Acesso em: 10 jan. 2025.

REED, R. et al. Radiotherapy effect on nano-mechanical properties and chemical composition of enamel and dentine. *Archives of Oral Biology*, v. 60, n. 5, p. 690-697, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.02.020>. Acesso em: 10 jan. 2025.

RIYAT, M.; SHARMA, D. C. Analysis of 35 inorganic elements in teeth in relation to caries formation. *Biological Trace Element Research*, v. 129, n. 1-3, p. 126-129, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12011-008-8305-6>. Acesso em: 10 jan. 2025.

SAIKI, M.; ADACHI, A. L. K.; ADACHI, A. E. M. Elemental comparison in sound and carious human teeth by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 282, p. 29-32, 2009.

SHASHIKIRAN, N. D.; SUBBA REDDY, V. V.; HIREMATH, M. C. Estimation of trace elements in sound and carious enamel of primary and permanent teeth by atomic absorption spectrophotometry: An in vitro study. *Indian Journal of Dental Research: Official Publication of Indian Society for Dental Research*, v. 18, n. 4, p. 157-162, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0970-9290.35824>. Acesso em: 10 jan. 2025.

SILVA, A. R. et al. Patterns of demineralization and dentin reactions in radiation-related caries. *Caries Research*, v. 43, n. 1, p. 43-49, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000192799>. Acesso em: 10 jan. 2025.

SILVA, A. R. et al. Radiation-related caries and early restoration failure in head and neck cancer patients. A polarized light microscopy and scanning electron microscopy study. *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, v. 18, n. 1, p. 83-87, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00520-009-0633-3>. Acesso em: 10 jan. 2025.

TOLENTINO, E. de S. et al. Oral adverse effects of head and neck radiotherapy: Literature review and suggestion of a clinical oral care guideline for irradiated patients. *Journal of Applied Oral Science: Revista FOB*, v. 19, n. 5, p. 448-454, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1678-77572011000500003>. Acesso em: 10 jan. 2025.

VISSINK, A. et al. Oral sequelae of head and neck radiotherapy. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine: An Official Publication of the American Association of Oral Biologists*, v. 14, n. 3, p. 199-212, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/154411130301400305>. Acesso em: 10 jan. 2025.

WU, L.; GENG, K.; GAO, Q. Effects of different anti-caries procedures on microhardness and micromorphology of irradiated permanent enamel. *Dental Materials Journal*, v. 39, n. 1, p. 118-125, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.4012/dmj.2018-385>. Acesso em: 10 jan. 2025.