



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



**A micromorfologia da junção amelodentinária está preservada após a
radioterapia em cabeça e pescoço**

Guilherme Borges Manta

Piracicaba
2.013

Guilherme Borges Manta

**A micromorfologia da junção amelodentinária está preservada após a
radioterapia em cabeça e pescoço**

Orientador: Prof. Dr. Alan Roger dos Santos da Silva

Co-Orientadora: Dra. Ana Carolina Prado Ribeiro

Piracicaba

2.013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARILENE GIRELLO – CRB8/6159 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

Manta, Guilherme Borges, 1988-

M318m A micromorfologia da junção amelodentinária está preservada após a radioterapia em cabeça e pescoço / Guilherme Borges Manta. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2013.

Orientador: Ana Carolina Prado Ribeiro.

Coorientador: Alan Roger dos Santos Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Suscetibilidade à cárie dentária. 2. Lesão de contragolpe. 3. Camada de esfregaço. I. Ribeiro, Ana Carolina Prado, 1981- II. Santos-Silva, Alan Roger, 1981- III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Dedicatória

Dedico esse trabalho de conclusão de curso aos meus pais, Marilda e Manoel; que sempre me incentivavam a continuar e fazer o melhor possível.

Dedico essa tese de conclusão de curso, aos meus irmãos Camila e Gustavo; que me inspiraram respeito e admiração.

Dedico essa oportunidade ao Prof. Dr. Alan Roger dos Santos Silva e a Dra. Ana Carolina Prado Ribeiro; cuja amizade e orientação foram fundamentais para a conclusão do trabalho.

Agradecimentos

À Deus, pois sem Ele não seria possível concluir esse trabalho.

Ao Prof. Dr. Alan Roger dos Santos Silva e a Dra. Ana Carolina Prado Ribeiro, pela regência no decorrer do trabalho.

Ao Adriano Luis Martins, por sua orientação e apoio técnico no laboratório de microscopia eletrônica de varredura (Faculdade de Odontologia de Piracicaba).

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba e a Unicamp pela infraestrutura oferecida.

Resumo

A eficiência da radioterapia de cabeça e pescoço no controle do câncer de cabeça e pescoço é conseguida a expensas de diversas complicações e toxicidades bucais. Nesse contexto, estudos já publicados sugerem que as microestruturas dos tecidos dentais de pacientes que foram submetidos à radioterapia de cabeça e pescoço estão sujeitas aos efeitos diretos da radiação, podendo contribuir para o desenvolvimento da cárie relacionada à radiação (CRR). Portanto, o objetivo desse estudo foi analisar se os efeitos diretos da radioterapia em cabeça e pescoço são capazes de afetar a micromorfologia da junção amelodentinária (JAD). Vinte e nove dentes permanentes humanos extraídos por motivos independentes deste estudo foram submetidos a um estudo observacional baseado na microscopia de luz óptica (MLO), microscopia com luz polarizada (MLP) e pela análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV); para análise da forma e integridade da JAD, dos fusos, tufos e lamelas do esmalte bem como da relação entre os túbulos dentinários e a JAD. A combinação da MLO com MLP identificou JAD preservada em 100% dos espécimes. Fusos, tufos e lamelas do esmalte também foram observados na maioria dos espécimes (75%, 74,7% e 71,4%, respectivamente). Apenas uma pequena proporção das amostras não apresentava túbulos dentinários se estendendo até a JAD (16,4%). Em conclusão, os aspectos microestruturais da JAD estão altamente preservados em dentes extraídos de pacientes submetidos à radioterapia em cabeça e pescoço, evidência que enfraquece a teoria que a destruição radiogênica da JAD é essencial para etiologia, apatogênese e a progressão da CRR.

Palavras-chaves: Suscetibilidade à Cárie Dentária – Camada de Esfregaço – Lesão de Contragolpe.

Abstract

The effectiveness of radiotherapy in controlling head and neck cancer is achieved at the expense of several oral complications. In this context, previously published studies suggested that the microstructure properties of dental tissues of patients who underwent head and neck radiotherapy is impaired by the direct effects of radiation on teeth, leading to radiation-related caries (RRC). Therefore, the aim of this study was to analyze if direct effects of head and neck radiotherapy would be able to affect the dentin-enamel junction (JAD) micro morphology. Twenty-nine human permanent teeth extracted from post-head and neck radiation patients were submitted to an observational study based on optical light microscopy (OLM), polarized light microscopy (MLP) and scanning electron microscopy (SEM) for the shape and continuity of the JAD as well as the presence and integrity of enamel spindles, tufts, lamellae and the relationship between the odontoblastic tubules and the JAD. The combination of OLM and MLP showed that the shape and continuity of the JAD were highly preserved (100%). Enamel spindles (75%), enamel tufts (74.7%) and enamel lamellae (71.4%) were observed in most of the samples. Only a small proportion of the samples did not present odontoblastic tubules arriving to the JAD (mean 16.4%). In conclusion, the micro morphological features of the JAD are highly preserved in teeth from patients who underwent head and neck radiotherapy, supporting the theory that direct radiogenic destruction of teeth seems to be not essential to the etiology, pathogenesis and progression of RRC.

Keywords: Dental Caries Susceptibility - Contrecoup Injury - Smear Layer.

Sumário

1. Introdução.....	10
2. Revisão de Literatura.....	10
3. Proposição.....	12
4. Materiais e Métodos.....	12
5. Resultados.....	14
6. Discussão.....	23
7. Conclusão.....	26
8. Bibliografia.....	26

1. Introdução

O presente estudo se propôs a analisar a estrutura microscópica da JAD de dentes humanos que foram extraídos de pacientes oncológicos que haviam concluído radioterapia na região de cabeça e pescoço. O objetivo principal deste trabalho foi testar a hipótese de que os efeitos diretos da radiação são capazes de gerar alterações na micromorfologia da JAD e contribuir para o início e a progressão da cárie de radiação - CRR.

2. Revisão de Literatura

A radioterapia de cabeça e pescoço em pacientes oncológicos é associada a vários efeitos adversos odontológicos como mucosite, hipossalivação, osteorradionecrose, cárie relacionada à radiação (CRR), infecções fúngicas e trismo. A CRR é uma das mais sérias consequências da radioterapia de cabeça e pescoço no contexto odontológico e é caracterizada por uma forma rampante que costuma causar amputação coronária e destruição generalizada dos dentes, apenas poucos meses após a conclusão da radioterapia em cabeça e pescoço (1 - 4). O risco para desenvolver a CRR é permanente após a radioterapia em cabeça e pescoço e afeta aproximadamente 25% dos pacientes que concluíram esta modalidade de tratamento oncológico, causando impacto negativo na qualidade de vida dos pacientes afetados. Portanto, a CRR é um grande desafio para o cirurgião-dentista pelas altas taxas de cáries rampantes e recorrentes e também pelo notório insucesso restaurador dos dentes afetados devido às altas taxas de perda precoce de restaurações. Finalmente, a CRR é um dos principais fatores de risco para a osteorradionecrose (5, 6).

A CRR é atualmente considerada uma doença multifatorial principalmente atribuída aos efeitos indiretos da radiação sobre a quantidade

(hipossalivação) e a qualidade da saliva (mudanças na composição que aumentam o risco de cáries rampantes) (2, 6). Entretanto, diversos pesquisadores sugerem que efeitos diretos da radiação sobre a estrutura dental seriam importantes para o início e a progressão da CRR, trabalhando em sinergia ao efeito indireto da radiação supramencionado (7 – 12). Estudos anteriores afirmam que os efeitos diretos da radiação na dentição podem causar alterações na integridade da junção amelodentinária (JAD), promovendo a perda da integridade da junção entre o esmalte e a dentina, causando por sua vez uma desorganização da estrutura prismática do esmalte e uma diminuição da resistência dental contra o ataque ácido bacteriano oriundo da progressão da cárie (8,13).

A JAD é formada enquanto os tecidos duros dentais estão em desenvolvimento, podendo ser observada em cortes histológicos como uma linha irregular que une o esmalte e a dentina (14). A JAD geralmente apresenta 25 a 100µm de diâmetro e sua estrutura morfológica é freqüentemente descrita como microedentações mineralizadas convexas em direção à dentina e côncavas em direção ao esmalte dental (15-18). Esta estrutura contém projeções que aumentam o contato entre o esmalte e a dentina, o que faz com que ocorra uma redução na concentração de estresse na junção das estruturas dentais que possuem diferentes características minerais e propriedades físicas distintas (14, 17, 18).

Estudos que utilizam a microscopia eletrônica de varredura (MEV) demonstram que a JAD apresenta uma série de projeções que aumentam a adesão entre a dentina e o esmalte dentário, sendo mais pronunciada na porção coronária onde a tensão oclusal é mais intensa (18, 19). A micromorfologia da JAD é constituída pelo esmalte e seus componentes estruturais conhecidos como lamelas, tufos e fusos do esmalte. Lamelas e tufos são considerados como pontos críticos para infiltração bacteriana e fragilidade estrutural decorrente da progressão microscópica da cárie o que, por sua vez, leva a fraturas dentais (20-25). As lamelas são estruturas de matriz orgânica não calcificada do esmalte que apresentam um padrão linear

de formação, por vezes sinuoso, e com um padrão de ramificação (25). Os tufos são considerados como regiões de hipominerilização do esmalte ricos em componentes orgânicos que lhes conferem aparência ondulada (20-26).

3. Proposição

O objetivo desse estudo foi analisar se os efeitos diretos da radioterapia em cabeça e pescoço são capazes de afetar a micromorfologia da junção amelodentinária (JAD).

4. Material e Métodos

Seleção da Amostra

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de ética da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, São Paulo, Brasil (protocolo No. 167/2006), estando de acordo com as recomendações do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde do Brasil, para pesquisa com material humano.

Vinte e nove dentes permanentes humanos obtidos de 15 pacientes com câncer que haviam concluído radioterapia em cabeça e pescoço foram usados. Todos os espécimes utilizados neste estudo foram extraídos de modo independente ao desenvolvimento deste estudo devido à doença periodontal avançada. Todos os dentes que foram analisados neste estudo estavam dentro do campo de radiação no momento da radioterapia e, portanto, receberam altas doses de radiação que variam entre de 50 a 70,4 Gy. Após a extração dentária as amostras foram imediatamente armazenadas em solução de formol a 10% até que fossem processadas para análise.

Análise microscópica

Cortes axiais de 100µm de espessura foram realizados na direção do eixo central vertical do dente foram realizados por meio de um disco

diamantado montado em cortadeira de precisão de baixa-velocidade (BuehlerIsomet, Lake Bluff, Illinois, USA), sob irrigação constante. Os cortes foram realizados coincidindo com o sentido vestibulo-lingual das amostras. A seguir, as amostras foram polidas usando-se uma série de lixas com granulação crescente até a obtenção de espécimes com espessura final de aproximadamente 80µm (controlada por paquímetro digital). Uma secção de cada espécime foi submetida à análise por meio da microscopia de luz óptica (MLO) (DMR; Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) e microscopia de luz polarizada (MLP) (DM 5.000; Leica, Wetzlar, Germany) para a análise descritiva da morfologia da JAD.

Posteriormente, 10 dos 29 espécimes foram selecionados para análise por meio do microscópio eletrônico de varredura (MEV). Os espécimes foram fraturados na região central das coroas com a utilização de um cinzel cirúrgico. As superfícies internas fraturadas de esmalte e dentina foram então submetidas ao condicionamento com ácido fosfórico 37% (Condac 37, FGM Dental products, Joinville, SC, Brazil), durante 30 segundos na porção do esmalte e 15 segundos na dentina com lavagem e secagem subsequente com auxílio de jato de água e ar, por aproximadamente 15 segundos em cada etapa. Posteriormente, todas as amostras foram desidratadas em solução de etanol (variando de 70% a 100%) e secadas com pontas de papel absorvente (DCP-1, Denton Vacuum inc., Moorestown, NJ, USA). As amostras foram confeccionadas em blocos de alumínio (*stubs*), de forma unitária, com a superfície fraturada e condicionada posicionada para o alto. As amostras foram fixadas nos *stubs* com ajuda de uma fita duplas face carbonada (Electron Microscopy Sciences, Washington 19034 - USA). Em subsequência, as amostras foram cobertas (pulverizadas) com ouro numa máquina metalizadora (Balzers SCD 050 sputtercoater, Balzers Union Aktiengesellschaft, Furstentum Liechtenstein, FL-9496 - Germany), por 120 segundos, para examiná-las no MEV (JSM - 5600LV - JEOL LTD., Tóquio, Japão).

Todas as características morfológicas foram analisadas em áreas que não foram afetadas pela CRR. A análise descritiva por MLO, MLP e MEV foi

realizada em toda a superfície coronária da JAD (iniciando na porção cervical da coroa dental e terminando na região incisal ou oclusal). O critério para análise em microscópica das amostras foi:

- Forma e continuidade da JAD
 - Preservada ou não preservada
- Presença de fusos, tufo e lamelas do esmalte
 - Presente ou ausente
- Relação entre os túbulos dentinários e a JAD
 - (0) túbulos dentinários se estendendo até a JAD
 - (1) túbulos dentinários aquém da JAD

5. Resultados

Dos 29 dentes incluídos neste estudo, 37,9% (11) foram incisivos, 34,5% (10) molares e 27,6% (08) caninos. Vinte e nove dentes foram avaliados por MLO e 28 por MLP.

Microscopia de Luz Óptica

A forma e continuidade da JAD foram preservadas na região cervical em 86,2% (25) das amostras, na região coronária média em 93,1% (27) dos casos e na região incisal ou oclusal em 72,4 % (21) das amostras, o que significa que 83,9% das amostras apresentaram forma normal e continuidade preservada da JAD (**Figura 1 A**).

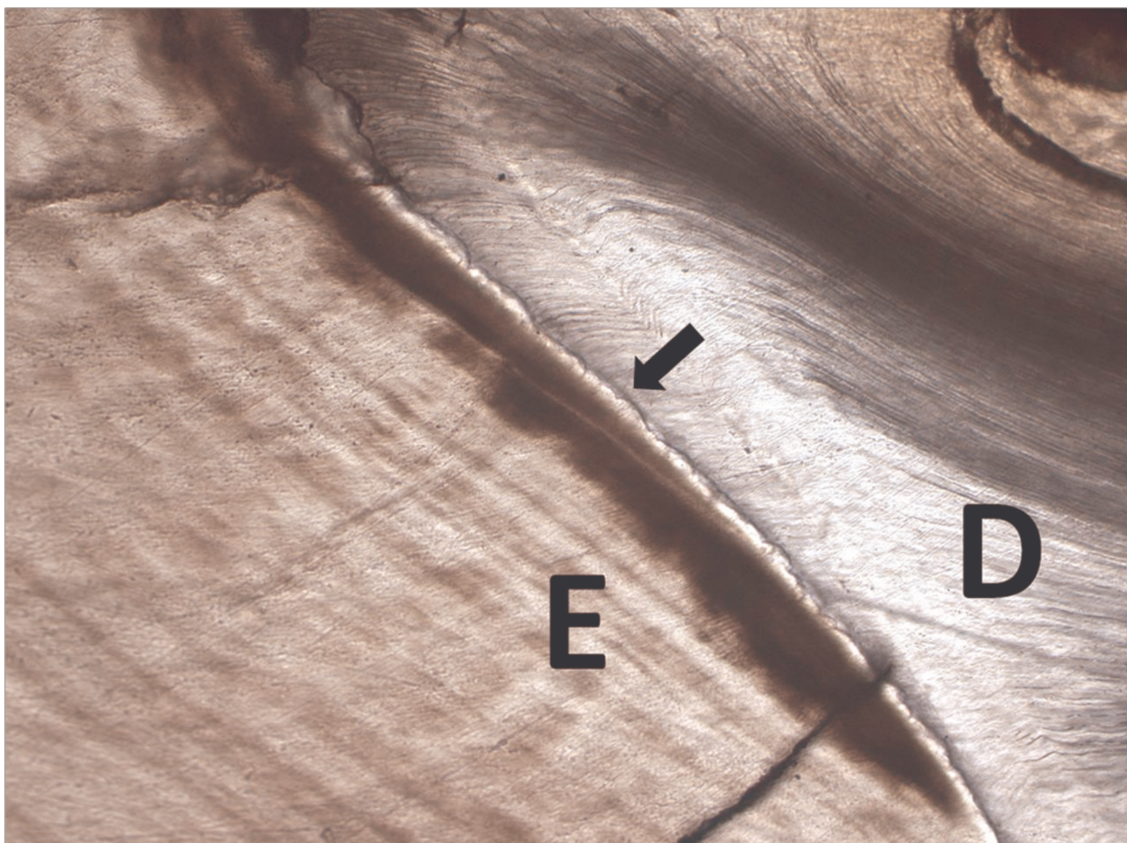


Figura 1A: Fotografia de microscopia ótica, evidenciando que a continuidade da forma da JAD (100x). E = esmalte; D = dentina; Seta escura: JAD.

Os fusos de esmalte estavam presentes na região cervical em 75,9% (22) dos casos, em 72,4% (21) das amostras na região coronária médio, e em 65,5% (19) das amostras na região incisal ou oclusal. Em media, 71,3% das amostras apresentaram fusos do esmalte (**Figura 1 B**).

Os tufos do esmalte estavam presentes na região cervical de 69% (20) das amostras; 89,7% (26) das amostras apresentaram tufos na região coronária média e 65,5% (19) dos casos na região oclusal. No geral, 74,7% dos casos apresentaram tufos de esmalte. **Figura 1 B**.



Figura 1B: Fotografia de microscopia de luz óptica mostrando as características morfológicas do esmalte da JAD (50X). E = esmalte; D = dentina; Seta preta = tufo de esmalte; Setas brancas = esmalte em fusos.

As lamelas de esmalte estavam presentes na região cervical em 82,7% (24) das amostras, na região coronária média de 62,1% (18) dos casos e na região incisal ou oclusal de 62,1% (18) das amostras. Em média, 69% espécimes demonstraram evidências microscópicas de lamelas de esmalte.

Os resultados da relação entre os túbulos dentinários e a JAD (**Figura 2**) encontram-se resumidos na **Tabela I**.

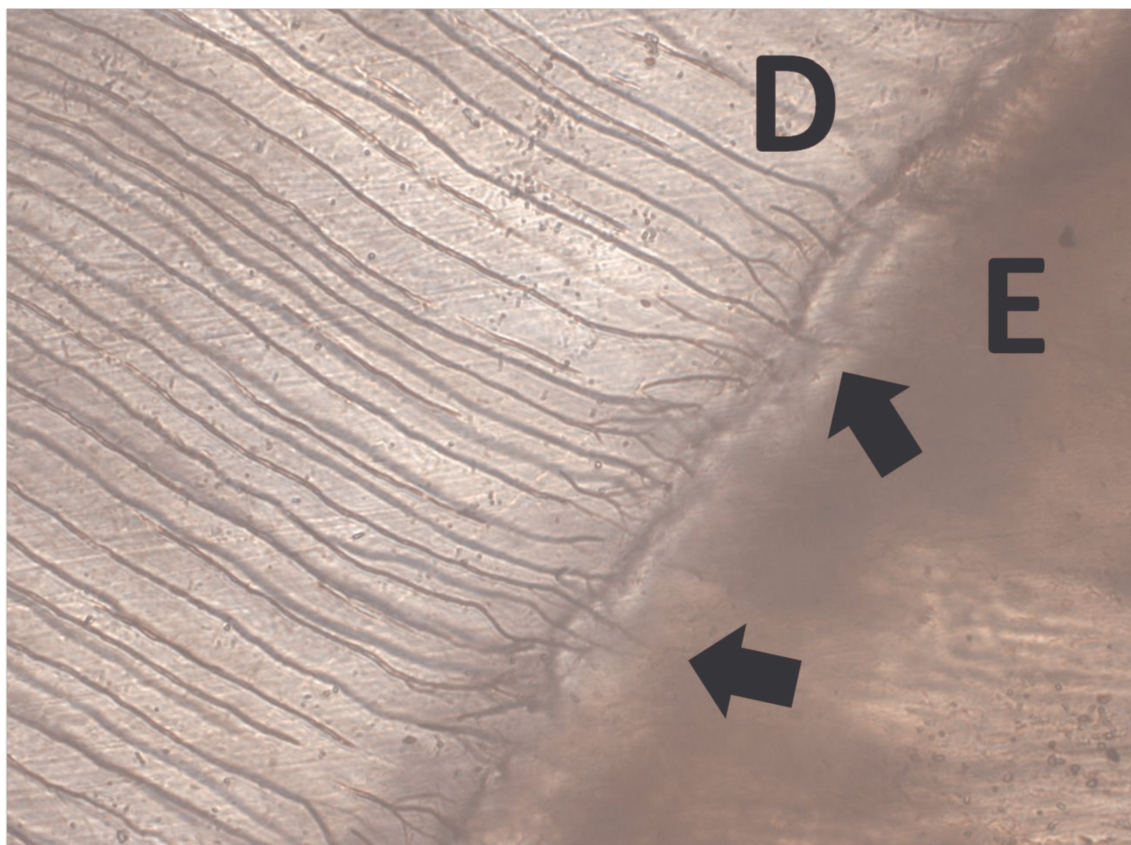


Figura 2: Fotografia de microscopia de luz óptica mostrando os túbulos dentinários com ramificação terminal de chegadas e invadindo (setas pretas) a JAD (400X). E = esmalte; D = dentina.

Tabela I. Relação entre o prolongamento dos túbulos dentinários e a JAD, analisados sob a microscopia óptica.

	Região Cervical	Região Média - Inferior	Região Média - superior	Região Incisal / Oclusal	Total (%)
Túbulos que NÃO chegam a JAD	34.5% (10)	13.8% (4)	13.8% (4)	3.4% (1)	16.4%
Túbulos dentinários que chegam a JAD	65.5% (19)	86.2% (25)	86.2% (25)	96.5% (28)	83.6%

Microscopia de Luz Polarizada

Para a análise por meio da MLP, todos os espécimes foram avaliados na região coronária média. A forma e a continuidade da JAD (**Figura 3**) estavam conservadas em 100% dos casos.

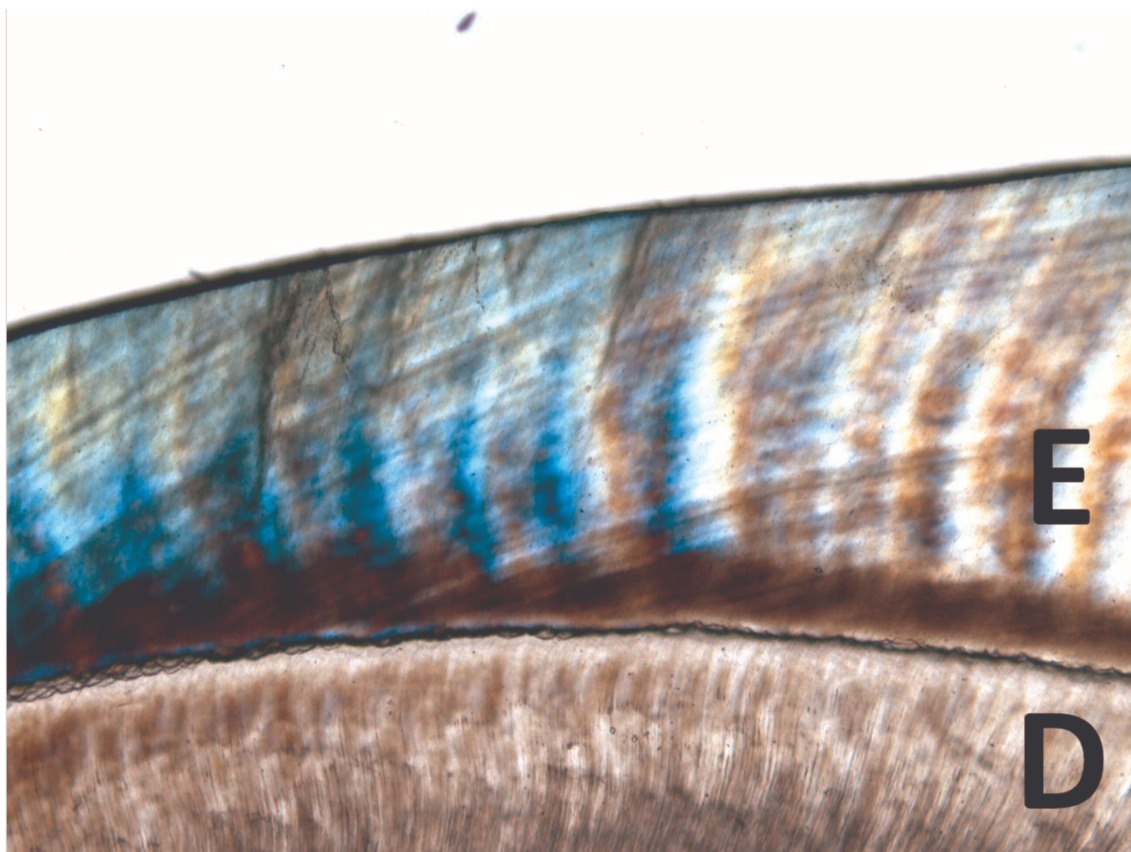


Figura 3: Fotografia de microscopia de luz polarizada mostrando a continuidade da JAD preservada (50X). E = esmalte; D = dentina.

Os fusos do esmalte estavam presentes em 75% (21) dos dentes. Os tufos do esmalte (**Figura 4A**) estavam presentes em 71,4% (20) dos casos e as lamelas de esmalte (**Figura 4B**) estavam presentes em 71,4% (20) dos espécimes.

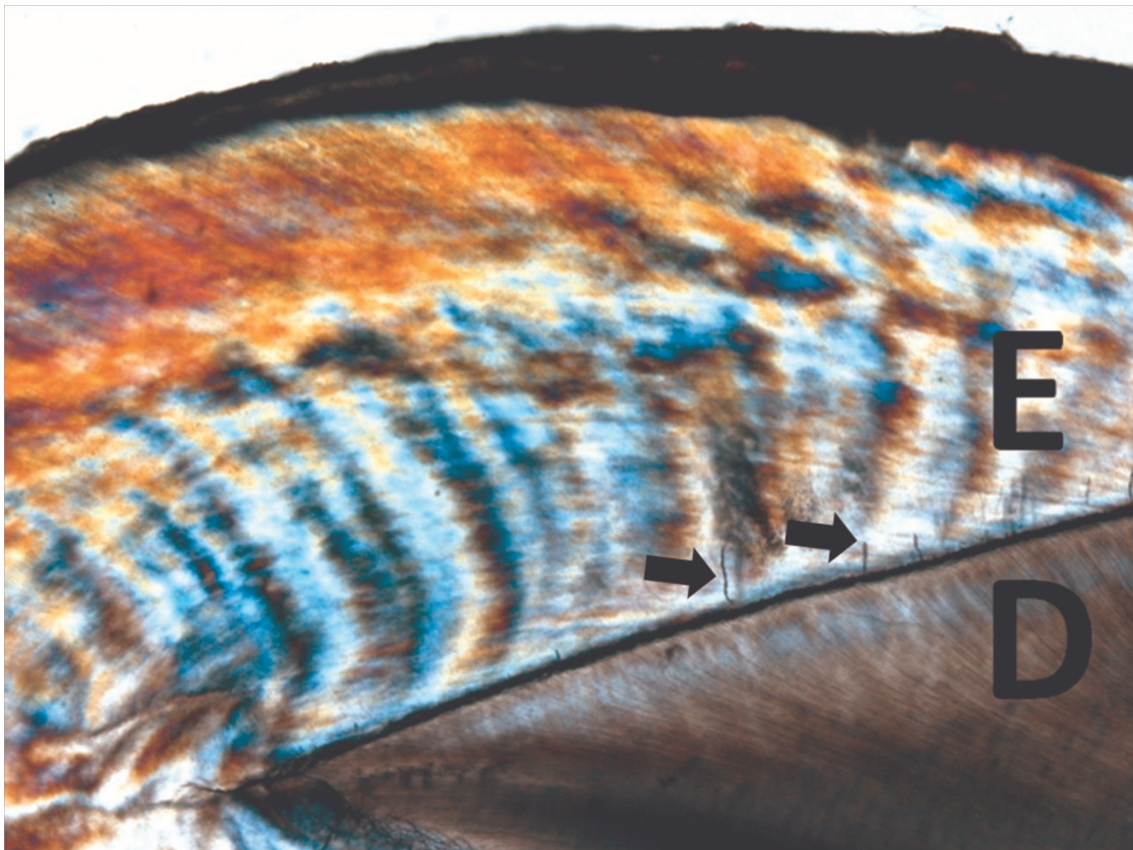


Figura 4A: Fotografia de microscopia de luz polarizada, demonstrando os defeitos morfológicos do esmalte que chegam à JAD (50x). E = esmalte; D = dentina; Setas pretas: fusos de esmalte.

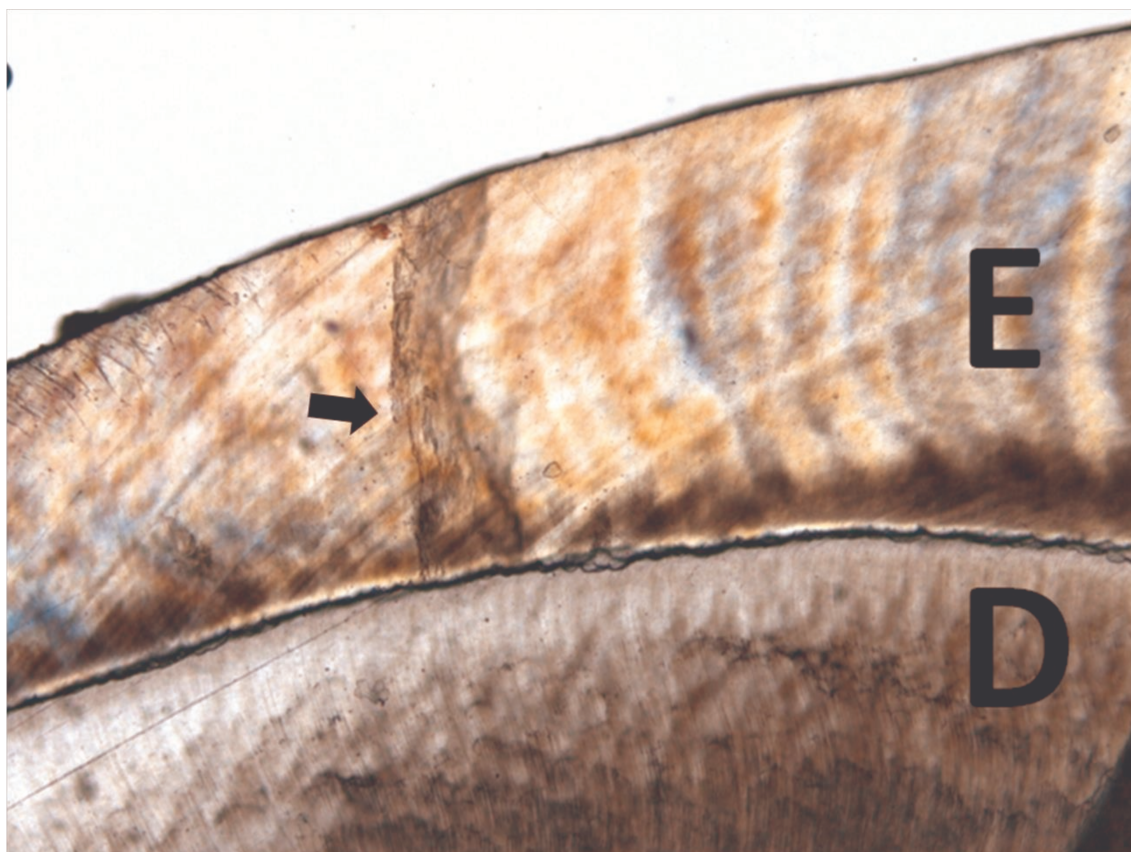


Figura 4B: Fotografia de microscopia de luz polarizada, demonstrando a presença de lamela no esmalte (seta preta) (50x). E = esmalte; D = dentina.

A relação entre os túbulos dentinários e a JAD (**Figura 5**) também foi avaliada por meio da MLP e 100% (28) das amostras apresentaram túbulos dentinários que se estendiam até a JAD.

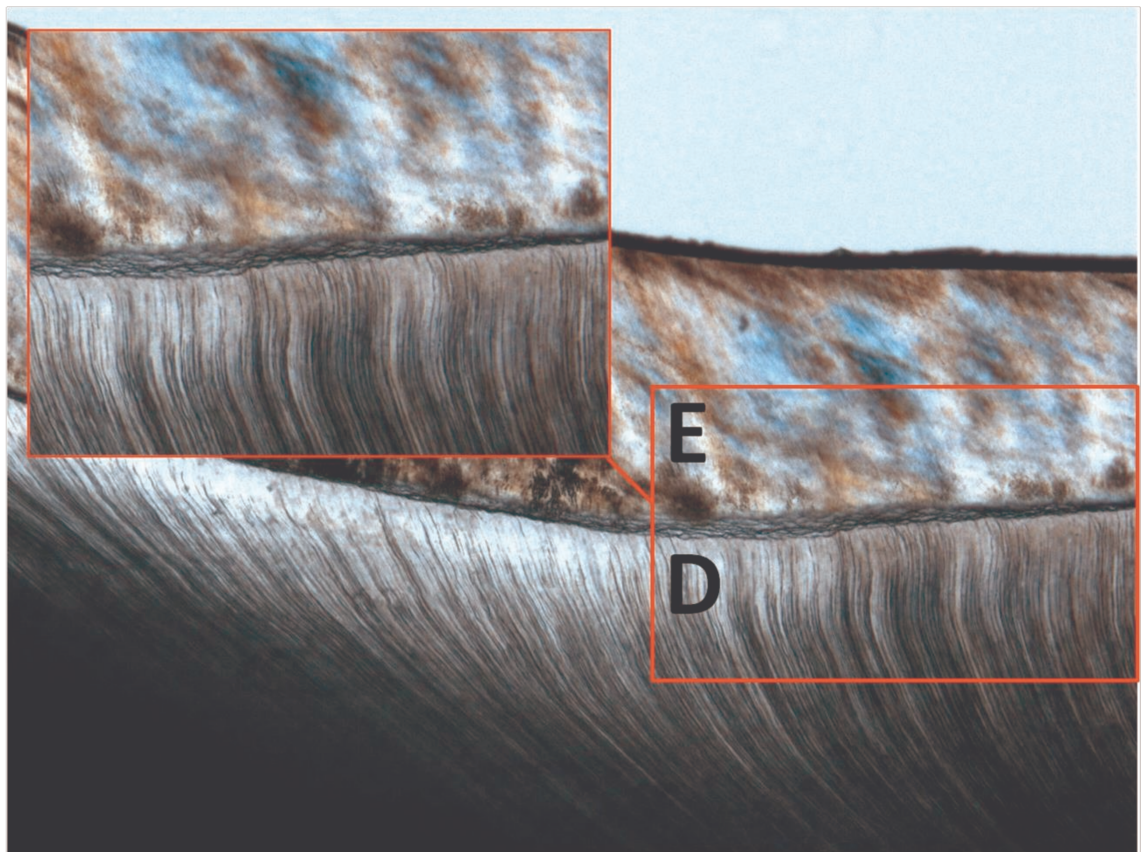


Figura 5: Fotografia de microscopia de luz polarizada demonstrando os túbulos dentinários que chegam a JAD (400x). E = esmalte; D = dentina.

Microscopia eletrônica de varredura

A forma e a continuidade da JAD (**Figura 6A**) estavam preservadas em 100% (10) dos espécimes. Os fusos do esmalte, os tufo e lamelas estavam presentes em 100% (10) dos casos. A relação entre os túbulos dentinários e a JAD (**Figura 7**), quando avaliada por meio do MEV mostrou que 100% das amostras apresentaram túbulos que se estendiam até a JAD.

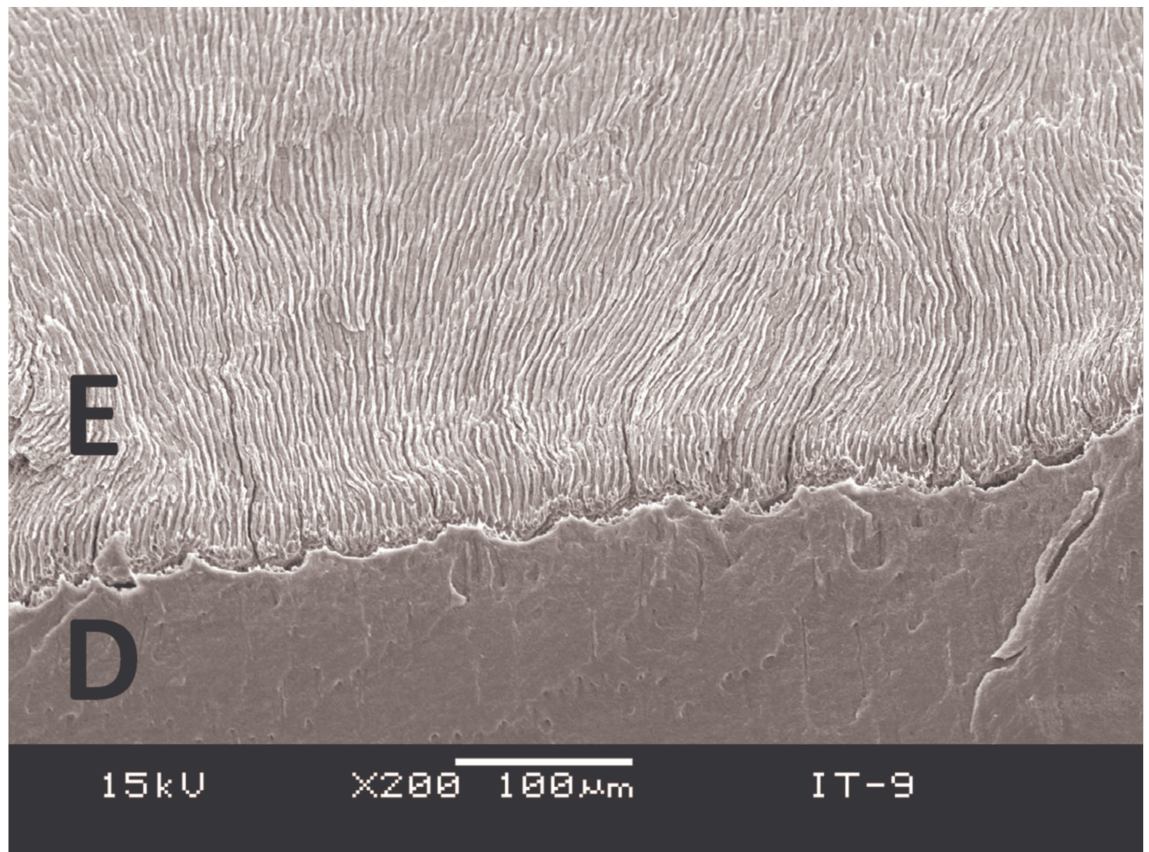


Figura 6: Fotografia de microscopia eletrônica de varredura, mostrando a forma e a continuidade da JAD, tufos de esmalte e fusos de esmalte. E = esmalte; D = dentina.

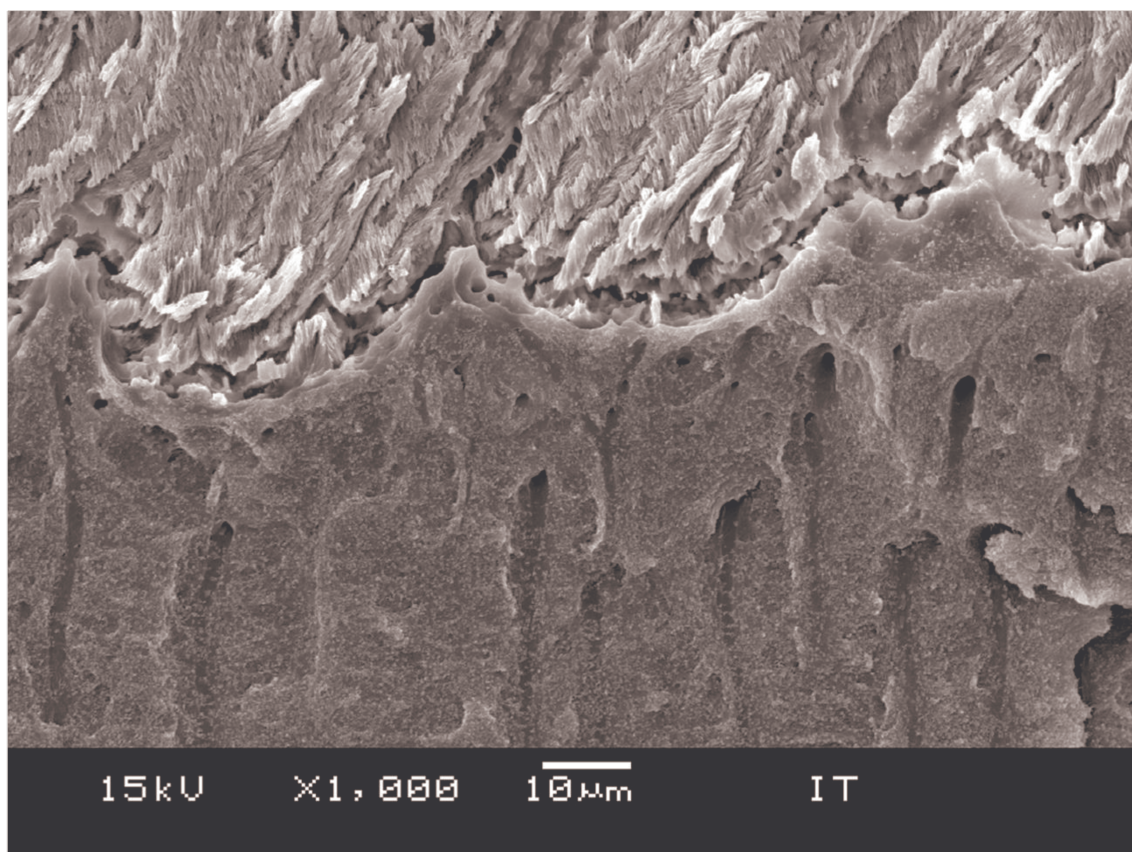


Figura 7: Fotografia de microscopia eletrônica de varredura mostrando a ramificação dos túbulos que chegam a JAD. E = esmalte; D = dentina; setas pretas = bifurcação dos túbulos dentinários.

6. Discussão

A JAD é a estrutura que realiza a união física do esmalte e da dentina, dois tecidos biológicos calcificados mecanicamente diferentes entre si que tem propriedades químicas, físicas e funcionais altamente especializadas (17, 18, 27-29). A JAD desempenha um papel fundamental na prevenção de transmissão de fissuras e de microrganismos através do esmalte para a dentina (17, 21).

A dentina é menos mineralizada do que o esmalte e contém maior quantidade de colágeno fato que a permite reduzir a concentração de tensão mecânica que recebe da mastigação, promovendo deflexão e prevenindo rachaduras e trincas em esmalte e dentina. Por esta razão, fissuras ou planos

de fratura que são formadas no interior do esmalte raramente se propagam através da JAD para a dentina subjacente. Neste contexto, a JAD desempenha função mecânica essencial para proteção mecânica dos dentes (21, 30).

Na literatura existem muitas dúvidas não solucionadas a respeito das características morfológicas, das propriedades mecânicas e dos aspectos funcionais da JAD em dentes de pacientes que receberam radioterapia para o tratamento do câncer de cabeça e pescoço. Sendo que existem autores que conjecturam prejuízo funcional da JAD decorrente dos efeitos diretos da radioterapia sobre o esmalte e a dentina, o que, por sua vez, diminuiria a capacidade da JAD de prevenir a propagação de microfraturas e de resistir à progressão da cárie (9, 10).

O presente estudo avaliou a JAD irradiada *in vivo*, modelo que valoriza os resultados obtidos por que esta amostra foi submetida não apenas aos efeitos diretos da radioterapia, mas também aos efeitos indiretos como hipossalivação, alterações qualitativas da saliva e uma série de outros eventos (como higiene limitada e dieta pastosa) que tornam o ambiente bucal dos pacientes irradiados extremamente cariogênico (31).

A combinação da MLO, da MLPe do MEV jamais havia sido utilizada no contexto deste trabalho de pesquisa e permitiu uma análise detalhada das microestruturas que compõem o esmalte e a JAD desta amostra. Recentemente, a morfologia e o conteúdo mineral da CRR foram estudados por meio da MLP e do MEV, sendo que não foi possível encontrarevidências microscópicas de destruição radiogênica da dentina e do esmalte cariados (32, 33), entretanto, a morfologia da JAD em áreas livres de CRR foi muito pouco estudada até o momento.

Pioch et al., (1992) foram os primeiros autores que demonstraram experimentalmente os efeitos da radiação na JAD, mas, diferentemente de nosso estudo, foram utilizados dentes bovinos irradiados *in vitro* (9). Estes autores relataram que a radiação causou alterações morfológicas na JAD, o que reduziria sua estabilidade e aumentaria o risco para a CRR (9). Mais

recentemente, outro grupo de pesquisadores relatou que o ambiente de hipossalivação induzida pela radiação pode promover um aumento da tensão na JAD, diminuindo suas propriedades mecânicas e, portanto, aumentando o potencial de fraturas do esmalte que causariam a notória destruição dental associada à CRR (13).

Contudo, no presente estudo, a continuidade e a morfologia da JAD se mostraram altamente preservada na maioria absoluta das amostras. Em nenhum espécime foi possível observar evidências de alterações micromorfológicas nos componentes da JAD, incluindo lamelas, fusos e tufos do esmalte bem como a relação harmoniosa entre as terminações dos túbulos dentinários e a JAD. Além disto, foi observada preservação do formato microestruturado da JAD em todos os espécimes irradiados avaliados. É oportuno mencionar que a ausência de alguns componentes morfológicos da JAD em uma pequena parcela dos espécimes deste estudo não foi interpretada como efeito destrutivo da radiação e pode ser atribuída à variabilidade dos componentes morfológicos do esmalte e da dentina humana.

Walker et al., (2011) ao estudarem os efeitos da radioterapia oncológica sobre os dentes relataram inexistência das lamelas do esmalte. Em contraste com estes resultados, a presente amostra apresentou elevada densidade de lamelas do esmalte na região cervical da coroa dental com evidente extensão das lamelas até a JAD.

Recentes estudos sugerem que os tufos são elementos morfológicos do esmalte dotados de elevada fragilidade, atuando como fontes para a iniciação e propagação de fraturas (20, 23, 24, 34). Outros pesquisadores acreditam que eles proporcionam proteção interna de tensões mecânicas aplicadas ao esmalte (34). No presente estudo, os tufos foram altamente preservados do ponto de vista morfológico e frequentemente detectados entre as amostras irradiadas.

A dentina é composta por uma complexa trama de túbulos dentinários com aproximadamente 01µm de diâmetro que contêm os processos celulares

dos odontoblastos e os fluidos odontoblásticos essenciais para a fisiologia dentinária e pulpar (30). Em condições normais, os processos odontoblásticos podem se estender até a JAD ou mesmo atravessara JAD e alcançar o esmalte. Os resultados deste trabalho de conclusão de curso mostraram não existir alterações na micromorfologia da JAD, inclusive com a preservação da relação entre os túbulos dentinários e a JAD. Estes resultados contrariam os achados de Grotzet *al.*, (1997), que sugeriram que a radiação promoveria três alterações características nos dentes: (1). Rarefação da ramificação dos túbulos dentinários; (2).Túbulos dentinários que nãoatingiriam a JAD e (3). Formação de uma zona de baixa densidade mineral em dentina com aproximadamente 10 um de largura justaposta à JAD (7). Estes autores relataram ainda que a radiação poderiacausar obliteração dos túbulos dentinários decorrente da degeneração dos processos odontoblásticos que, por sua vez, se deveria à diminuição da vascularização pulpar rádioinduzida (7). É imperioso enfatizar que foi possível observar túbulos dentinários morfológicamente preservados alcançando e ultrapassando os limites da JAD na maioria das amostras JDE, contrariando os resultados supramencionados.

7. Conclusão

Os resultados aqui apresentados rejeitaram a hipótese que os efeitos diretos da radioterapia sobre dentes humanos irradiados *in vivo* seriam capazes de modificar a micromorfologiada JAD e provavelmente não participam de modo relevante para a etiologia e a progressão da CRR em pacientes oncológicos.

Declaração de Divulgação

Não há conflito de interesse para qualquer um dos autores deste artigo, que poderia introduzir viés ou afetar seu julgamento.

8. Referências bibliográficas

1. Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FK, et al. Prevention and treatment of the consequences of head and neck radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14:213-225.
2. Kielbassa AM, Hinkelbein W, Hellwig E, et al. Radiation-related damage to dentition. *Lancet Oncol* 2006;7:326-335.
3. Meurman JH, Gronroos L. Oral and dental health care of oral cancer patients: hyposalivation, caries and infections. *Oral Oncol* 2010;46:464-467.
4. González Arriagada WA, Santos-Silva AR, Carvalho de Andrade MA, et al. Pre-Radiotherapy Dental Evaluation Criteria and Treatment Needs of Oral Side Effects after Head and Neck Radiotherapy (in Spanish). *International Journal of Odonto stomatology* 2010;4:255-266.
5. Jham BC, Reis PM, Miranda EL, et al. Oral health status of 207 head and neck cancer patients before, during and after radiotherapy. *Clin Oral Investig* 2008;12:19-24.
6. Silva AR, Alves FA, Berger SB, et al. Radiation-related caries and early restoration failure in head and neck cancer patients. A polarized light microscopy and scanning electron microscopy study. *Support Care Cancer* 2009.
7. Grotz KA, Duschner H, Kutzner J, et al. [New evidence for the etiology of so – called radiation caries. Proof for directed radiogenic damage on the enamel-dentin junction]. *Strahlenther Onkol* 1997;173:668-676.
8. Grotz KA, Duschner H, Kutzner J, et al. [Histotomography studies of direct radiogenic dental enamel changes]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 1998;2:85-90.

9. Pioch T, Golfels D, Staehle HJ. An experimental study of the stability of irradiated teeth in the region of the dentino enamel junction. *EndodDentTraumatol*1992;8:241-244.
10. Springer IN, Niehoff P, Warnke PH, et al. Radiation caries—radiogenic destruction of dental collagen. *Oral Oncol*2005;41:723-728.
11. Kielbassa AM, Beetz I, Schendera A, et al. Irradiation effects on microhardness of fluoridated and non-fluoridated bovine dentin. *Eur J Oral Sci*1997;105:444-447.
12. al-Nawas B, Grotz KA, Rose E, et al. Using ultrasound transmission velocity to analyse the mechanical properties of teeth after in vitro, in situ, and in vivo irradiation. *Clin Oral Investig*2000;4:168-172.
13. Walker MP, Wichman B, Cheng AL, et al. Impact of Radiotherapy Dose on Dentition Break down in Head and Neck Cancer Patients. *Pract Radiat Oncol* 2011;1:142-148.
14. Goldberg M, Septier D, Bourd K, et al. The dentino-enamel junction revisited. *Connect Tissue Res* 2002;43:482-489.
15. Arsenault AL, Robinson BW. The dentino-enamel junction: a structural and micro analytical study of early mineralization. *CalcifTissueInt*1989;45:111-121.
16. Hayashi Y. High resolution electron microscopy in the dentino-enamel junction. *J Electron Microsc (Tokyo)* 1992;41:387-391.
17. Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW, Jr., et al. The functional with of the dentino-enamel junction determined by AFM-based nano scratching. *J StructBiol* 2001;135:294-301.
18. Brauer DS, Marshall GW, Marshall SJ. Variations in human DEJ scallop size with tooth type. *J Dent*2010;38:597-601.

19. Whittaker DK. The enamel—dentine junction of human and Macaca teeth: a light and electronmicroscopic study. *J Anat* 1978;125:323-335.
20. Chai H, Lee JJ, Lawn BR. Fracture of tooth enamel from incipient micro structural defects. *J MechBehavBiomedMater* 2010;3:116-120.
21. Imbeni V, Kruzic JJ, Marshall GW, et al. The dentin-enamel junction and the fracture of human teeth. *Nat Mater* 2005;4:229-232.
22. Lawn BR, Lee JJ. Analysis of fracture and deformation modes in teeth subjected to Occlusal loading. *ActaBiomater* 2009;5:2213-2221.
23. Lee JJ, Kwon JY, Chai H, et al. Fracture modes in human teeth. *J Dent Res* 2009;88:224-228.
24. Myoung S, Lee J, Constantino P, et al. Morphologyandfractureofenamel. *J Biomech* 2009;42:1947-1951.
25. Walker BN, Makinson OF, Peters MC. Enamel cracks. The role of enamel lamellae in caries initiation. *AustDent J* 1998;43:110-116.
26. Amizuka N, Uchida T, Fukae M, et al. Ultra structural and immune cytochemical studies of enamel tufts in human permanent teeth. *Arch Histol Cytol* 1992;55:179-190.
27. Marshall GW, Jr., Balooch M, Gallagher RR, et al. Mechanical properties of the dentino enamel junction: AFM studies of nano hardness, elastic modulus, and fracture. *J BiomedMater Res* 2001;54:87-95.
28. Urabe I, Nakajima S, Sano H, et al. Physical properties of the dentin-enamel junction region. *Am J Dent* 2000;13:129-135.
29. Bodier-Houlle P, Steuer P, Meyer JM, et al. High-resolution electron-microscopic study of the relationship between humane name land dentincrysal sat the dentino enamel junction. *Cell Tissue Res* 2000;301:389-395.

30. Gallagher RR, Balooch M, Balooch G, et al. Coupled Nano mechanical and Raman Microspectroscopic Investigation of Human Third Molar DEJ. *J DentBiomech*2010;2010.

31. Santos-Silva AR, Rosa GB, Eduardo CP, et al. Increasedrisk for radiation-related caries in cancer patients using topical honey for the prevention of oral mucositis. *Int J Oral MaxillofacSurg* 2011;40:1335-1336; authorreply 1235.

32. Silva AR, Alves FA, Antunes A, et al. Patterns of demineralization and dentin reactions in radiation-related caries. *Caries Res* 2009;43:43-49.

33. Ten Cate AR, editor. *Oral Histology: Development, Structure and Function*. 4th ed. St. Louis, Missouri: Mosby; 1994.

34. Chai H, Lee JJ, Constantino PJ, et al. Remark able resilience of teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:7289-7293.



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "**Análise das características densitométricas, histológicas e ultraestruturais de dentes irradiados**", protocolo nº 167/2006, dos pesquisadores Alan Roger dos Santos Silva e Marcio Ajudarte Lopes, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 14/11/2006.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "**Analysis of densitometric, histological and ultrastructural characteristics of irradiated teeth**", register number 167/2006, of Alan Roger dos Santos Silva and Marcio Ajudarte Lopes, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 11/14/2006.

Profa. Dra. Cecília Gatti Guirado
Secretária
CEP/FOP/UNICAMP

Prof. Dr. Jacks Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.