

Radioterapia Oncológica: efectos y repercusión en la cavidad bucal

El incremento de las tasas de prevalencia e incidencia del cáncer en el mundo, motiva a los profesionales médicos a la busca de respuestas exactas, o posiblemente, ajustadas a la realidad poblacional de cada país. El inicio de investigaciones a partir de situaciones frecuentes en la consulta diaria, nos motiva a comenzar con estudios iniciales, realizados primariamente en el laboratorio, con muestras biológicas manejadas por un profesional capacitado en estos estudios denominados in vitro. Se hace necesario el pleno desarrollo de políticas definidas en el campo de la ciencia para de esa forma convidar a las futuras generaciones de profesionales en cada área de la salud, a despertar un temprano interés por la investigación y el involucrimiento en el área científica, basada siempre en el método científico ampliamente conocido. Es por ello, que este libro se destina también a los estudiantes en la diferentes especialidades del post-grado, principalmente del área hospitalaria, así como para futuros profesionales en el área del Pré grado, y para los profesionales inmersos en el fascinante mundo de la investigación científica. A los lectores del libro los convido a descubrir cada detalle.

Graduado en Odontología por la Universidad Particular de San Martín de Porres en Lima, Perú. Post graduando de la Universidad de San Pablo, Brasil, realizando maestría en ciencias (materiales) en el Instituto de Pesquisas Energéticas y Nucleares(IPEN), Centro de Láseres y Aplicaciones, conjuntamente con la Comisión Nacional de Energía Nuclear (CNEN).



978-3-639-53384-2

editorial académica española

Radioterapia y sus efectos en la boca

Bernaola Paredes, Andrade, Geraldo

ead
editorial académica española



Wilber Edison Bernaola Paredes · Delvonei Andrade · Áurea Geraldo

Radioterapia Oncológica: efectos y repercusión en la cavidad bucal

Evaluación in vitro de la composición y microdureza de los tejidos duros de la cavidad bucal sometidos a la radioterapia

Wilber Edison Bernaola Paredes
Delvonei Andrade
Áurea Geraldo

Radioterapia Oncológica: efectos y repercusión en la cavidad bucal

**Wilber Edison Bernaola Paredes
Delvonei Andrade
Áurea Geraldo**

Radioterapia Oncológica: efectos y repercusión en la cavidad bucal

**Evaluación in vitro de la composición y
microdureza de los tejidos duros de la cavidad
bucal sometidos a la radioterapia**

Editorial Académica Española

Impressum / Aviso legal

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek: Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Alle in diesem Buch genannten Marken und Produktnamen unterliegen warenzeichen-, marken- oder patentrechtlichem Schutz bzw. sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen der jeweiligen Inhaber. Die Wiedergabe von Marken, Produktnamen, Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen u.s.w. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Información bibliográfica de la Deutsche Nationalbibliothek: La Deutsche Nationalbibliothek clasifica esta publicación en la Deutsche Nationalbibliografie; los datos bibliográficos detallados están disponibles en internet en <http://dnb.d-nb.de>.

Todos los nombres de marcas y nombres de productos mencionados en este libro están sujetos a la protección de marca comercial, marca registrada o patentes y son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de sus respectivos propietarios. La reproducción en esta obra de nombres de marcas, nombres de productos, nombres comunes, nombres comerciales, descripciones de productos, etc., incluso sin una indicación particular, de ninguna manera debe interpretarse como que estos nombres pueden ser considerados sin limitaciones en materia de marcas y legislación de protección de marcas y, por lo tanto, ser utilizados por cualquier persona.

Coverbild / Imagen de portada: www.ingimage.com

Verlag / Editorial:

Editorial Académica Española

ist ein Imprint der / es una marca de

OmniScriptum GmbH & Co. KG

Bahnhofstraße 28, 66111 Saarbrücken, Deutschland / Alemania

Email / Correo Electrónico: info@omniscryptum.com

Herstellung: siehe letzte Seite /

Publicado en: consulte la última página

ISBN: 978-3-639-53384-2

Copyright / Propiedad literaria & cop Wilber Edison Bernaola Paredes, Delvonei Andrade, Áurea Geraldo

Copyright / Propiedad literaria © 2017 OmniScriptum GmbH & Co. KG

Alle Rechte vorbehalten. / Todos los derechos reservados. Saarbrücken 2017

DEDICATORIA

A mis queridos y respetados padres, **Robert Wilber Bernaola Marcelo** y **Rosa Sofía Paredes Olaya**, por ser coprotagonistas y el armazón fundamental en mi educación en los diferentes niveles, y por la confianza y apoyo incondicional durante toda mi vida.

AGRADECIMENTOS

Al Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) y a la Comisión Nacional de Energía Nuclear (CNEN) de la ciudad de San Pablo, en Brasil, por las instalaciones, el material científico y el financiamiento económico para el desarrollo de la investigación presentada en las próximas páginas de este libro.

Al Profesor Doctor, Delvonei Alves Andrade, investigador titular del Instituto de Pesquisas Energéticas y Nucleares (IPEN-CNEN, San Pablo, Brasil), por su valiosa colaboración, apoyo y motivación en el desarrollo de este libro

A la Profesora, Doctora, Áurea Beatriz Cerqueira Geraldo, investigadora titular del Centro de Tecnología de las Radiaciones, IPEN-CNEN, San Pablo, Brasil, por su apoyo científico y colaboración infinita en el contenido de este libro.

A la Estadista y Maestra Sandra Ari Flores, actual alumna de Doctorado del Instituto de Matemática y Estadística (IME), en la Universidad de San Pablo, USP, por su contribución científica y apoyo en el área estadística aplicada en este estudio.

A los colaboradores científicos del Brasil, pertenecientes al Centro de Láseres y Aplicaciones del Instituto de Pesquisas Energéticas y Nucleares, IPEN-CNEN, San Pablo, Brasil, Profa. Dra. Denise Maria Zezell, Dra. Claudia Bianchi Zamataro, Msc. Daísa de Lima Pereira, Msc. Marcia Dias, Profa. Dra. Carolina Benetti, Msc. Camila Ramos, Msc. Lucas Ramos de Pretto.

A los profesionales del Centro de Tecnología de las Radiaciones (CTR), IPEN-CNEN, San Pablo, Brasil, Elizabeth Sebastiana Ribeiro Somessari y Carlos Gaia da Silveira por el apoyo y atención durante la etapa de desarrollo del estudio, en las irradiaciones de las muestras, y por el alto compromiso mostrado hacia este estudio.

Al *staff* de la Biblioteca del IPEN-CNEN, San Pablo, Brasil, "Terezine Arantes Ferraz", por permitirme el acceso al acervo científico, por la amistad, cariño y acogida durante el desarrollo de la investigación.

A todo el equipo científico y administrativo del Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA), del Centro de Tecnología de las Radiaciones (CTR), del Centro de Caracterización y

Tecnología de los Materiales (CCTM), y del Centro de Química y Medio Ambiente (CQMA) del IPEN-CNEN, San Pablo, Brasil.

A toda mi familia y amigos por el incondicional apoyo. Gratitud eterna.

PREFACIO

El presente libro fue escrito destinado a los profesionales del área de la salud y afines interesados en el manejo multidisciplinar para el tratamiento del paciente oncológico, y lo que implica el conocimiento de las complicaciones inherentes a los procedimientos terapéuticos aplicados, siendo el caso, la radioterapia clínica. El cáncer, como problema de salud pública a nivel mundial, merece de una vasta red de estudios e investigaciones en busca de tratamientos y abordajes idóneos para tratarlo.

El incremento de las tasas de prevalencia e incidencia del cáncer en el mundo, incita a los profesionales médicos a la busca de respuestas exactas, o posiblemente, ajustadas a la realidad poblacional de cada país. El inicio de investigaciones a partir de situaciones frecuentes en la consulta diaria, nos motiva a comenzar con estudios iniciales, realizados primariamente en el laboratorio, con muestras biológicas manejadas por un profesional capacitado en estos estudios denominados *in vitro*.

Se hace necesario el pleno desarrollo de políticas definidas en el campo de la ciencia para de esa forma convidar a las futuras generaciones de profesionales en cada área de la salud, a despertar un temprano interés por la investigación y el involucramiento en el área científica, basada siempre en el método científico ampliamente conocido. Es por ello, que este libro se destina también a los estudiantes en la diferentes especialidades del post-grado, principalmente del área hospitalaria, así como para futuros profesionales en el área del Pre grado, y para los profesionales inmersos en el área de la investigación científica.

El desarrollo de un modelo *in vitro* a partir del tratamiento radioterápico de pacientes con cáncer de cabeza y cuello, y la generación de alteraciones morfológicas, composicionales y de propiedades físicas, evaluadas por métodos de laboratorios infrecuentes para el manejo del profesional clínico en la rutina diaria, y que se podrían tornarse herramientas de alta utilidad, y ampliarán la visión del clínico general y del investigador científico sobre cómo actúa la radiación ionizante por sí sola en los tejidos duros de la cavidad bucal, un área plenamente afectada por la radioterapia clínica.

A los lectores del libro, los convido a analizar y leer detalladamente los temas expuestos en este libro, lo que implica determinar el efecto directo de la radiación ionizante sobre los

tejidos biológicos y lo que aquello beneficiará a posteriori en el abordaje del paciente oncológico por parte del equipo multidisciplinar.

Los autores

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	10
CAPÍTULO I.....	16
CÁNCER EN EL MUNDO.....	16
1.1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER.....	17
1.2. CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO. GENERALIDADES	17
1.3. COMPLICACIONES DEL TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO. GENERALIDADES.....	18
CAPÍTULO II.....	19
TEJIDOS DUROS DE LA CAVIDAD BUCAL	19
2.1 ESMALTE DENTAL.....	20
2. 1. 1. <i>Propiedades físico-químicas del esmalte</i>	20
2. 1. 2. <i>Análisis ultra-estructural de los tejidos mineralizados</i>	21
2. 2. DENTINA RADICULAR.....	22
2. 2.1 <i>propiedades físico-químicas de la dentina</i>	22
2. 3 TEJIDO ÓSEO.....	24
2. 3. 1 <i>Características generales del tejido óseo humano</i>	24
2. 3. 2. <i>Características generales del tejido óseo suino</i>	25
CAPÍTULO III	28
CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO	28
3.1 GENERALIDADES. CONCEPTOS BÁSICOS.....	29
3.2 EPIDEMIOLOGÍA: PREVALENCIA E INCIDENCIA DEL CÁNCER EN LA REGIÓN DE CABEZA Y CUELLO....	30
3.3 TERAPÉUTICA DEL CÁNCER: OPCIONES DE TRATAMIENTO	30
CAPÍTULO IV	32
RADIACIÓN IONIZANTE. RADIACIÓN GAMMA. RADIOTERAPIA	32
4.1 RADIACIÓN IONIZANTE Y SU INTERACCIÓN CON LA MATERIA	33
4.1.1 <i>Transferencia Lineal de Energía (LET)</i>	34

4.2 EFECTOS BIOLÓGICOS DE LA RADIACIÓN IONIZANTE	35
4.3 RADIOTERAPIA.....	37
4.3.1 <i>Fundamentos de la radioterapia gamma</i>	37
4.3.2 <i>Complicaciones de la radioterapia</i>	39
CAPÍTULO V.....	45
TÉCNICAS DE ANÁLISIS	45
5.1 ANÁLISIS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO	46
5.1. 1 <i>Fundamentos generales</i>	46
5.2 ANÁLISIS POR LA ESPECTROSCOPIA EN EL INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE <i>FOURIER</i> (FTIR). TÉCNICA POR REFLEXIÓN TOTAL ATENUADA (ATR)	47
5.2. 1 <i>Espectroscopia en el infrarrojo por transformada de Fourier. Generalidades.</i>	47
5.2. 2 <i>Técnica por reflexión total atenuada (ATR)</i>	50
CAPÍTULO VI	52
METODOLOGÍA DEL ESTUDIO <i>IN VITRO</i>.....	52
6.1 MATERIALES Y MÉTODOS. GENERALIDADES.....	53
6.2 CORTE Y OBTENCIÓN DE LOS BLOQUES DE ESMALTE DENTAL Y DENTINA RADICULAR.....	53
6.3 PULIMENTO DE LOS BLOQUES DE ESMALTE DENTAL Y DENTINA RADICULAR.....	60
6.3. 1 <i>Pulimento de los bloques de esmalte dental</i>	60
6.3.2 <i>Pulimento de los bloques de dentina radicular</i>	63
6.4 OBTENCIÓN Y PREPARO DE LAS MUESTRAS DE HUESO MANDIBULAR SUINO	63
6.4.1 <i>Preparo y pulimento de las muestras del cuerpo mandibular suino</i>	67
6.4.2 <i>Preparo y pulimento de las muestras de la región del triángulo retromolar suino</i>	67
6.5 ANÁLISIS DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE INICIAL (BASELINE).....	68
6.5.1 <i>Análisis de Microdureza de Superficie Inicial (Baseline) para esmalte dental, dentina radicular, cuerpo mandibular y región del triángulo retromolar</i>	69
6.6 IRRADIACIÓN DE LAS MUESTRAS	74
6.6.1 <i>Estudio piloto para la determinación de la tasa de dosis</i>	75
6.6.2 <i>Irradiación de las muestras de esmalte dentario</i>	77
6.6.3 <i>Irradiación de las muestras de dentina radicular</i>	78
6.6.4 <i>Irradiación de las muestras de la región del triángulo retromolar</i>	78
6.6.5 <i>Irradiación de las muestras de cuerpo mandibular</i>	79
6.6 ANÁLISIS PORCENTUAL DE LA PÉRDIDA DE DUREZA DE SUPERFICIE	79
6.7 ANÁLISIS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).....	80
6.8. ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA ATR-FTIR.....	82

CAPÍTULO VII	86
ANÁLISIS ESTADÍSTICO EXPLORATORIO.....	86
7.1 ESMALTE DENTARIO (GRUPO 1)	87
7.2 DENTINA RADICULAR (GRUPO 02)	89
7.3 CUERPO MANDIBULAR (GRUPO 03).....	91
7.4 REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR (GRUPO 04)	93
CAPÍTULO VIII.....	96
RESULTADOS DEL ESTUDIO. ANÁLISIS DE MICRODUREZA. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO. FTIR	96
8.1 ANÁLISIS DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE (MDS)	97
8.2 ANÁLISIS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.....	108
8.3 ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA EN EL INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE <i>FOURIER</i> - TÉCNICA POR REFLEXIÓN TOTAL ATENUADA (ATR-FTIR)	125
CAPÍTULO IX	159
DISCUSIÓN	159
CAPÍTULO X.....	168
CONCLUSIONES.....	168
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	171

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO CON DETALLE EN LA REGIÓN DEL INFRARROJO	47
FIGURA 2. INTERFERÓMETRO DE MICHELSON, FUNCIONAMIENTO Y LA TRANSFORMADA DE FOURIER	49
FIGURA 3. TÉCNICA POR REFLEXIÓN TOTAL ATENUADA	50
FIGURA 4. MECHERO DE BUNSEN JUNTO A LA CERA AMARILLA UTILIZADA	55
FIGURA 5. CORONA DENTARIA FIJADA A LA LÁMINA DE ACRÍLICO CON CERA AMARILLA	56
FIGURA 6. DISTRIBUCIÓN DE LAS CORONAS OBTENIDAS Y FIJAS A LA LÁMINA DE ACRÍLICO	56
FIGURA 7. CORTE MANUAL DE LAS CORONAS DENTARIAS EN LA CORTADERA STRUERS	57
FIGURA 8. CORONA DENTARIA DESPUÉS DEL CORTE PARA LA OBTENCIÓN DE LOS BLOQUES DE ESMALTE .	57
FIGURA 9. RAÍZ DENTARIA FIJA A LA LÁMINA DE ACRÍLICO ANTES DEL CORTE MANUAL.....	58
FIGURA 10. DISTRIBUCIÓN DE LAS RAÍCES DENTARIA FIJAS EN LA LÁMINA DE ACRÍLICO PARA EL CORTE MANUAL	59
FIGURA 11. BLOQUES DE CORONA Y RAÍZ DENTARIAS DESPUÉS DEL CORTE MANUAL	59
FIGURA 12. POLITRIZ UTILIZADA PARA EL PULIMENTO DE LAS MUESTRAS EN ESTUDIO	61
FIGURA 13. PULIMENTO MANUAL DE LAS MUESTRAS CON DISCOS DE LIJA DE GRAMATURA DE DIFERENTES GRANOS (GROSORES)	61
FIGURA 14. ULTRA-PULIMENTO DE LAS MUESTRAS CON SOLUCIÓN DIAMANTADA, DISCO DE FIELTRO Y VELOCIDAD DE GIRO DE 300 RPM	62
FIGURA 15. PREPARO Y ESQUELETIZACIÓN DE LAS MANDÍBULAS SUINAS	64
FIGURA 16. DELIMITACIÓN DE LA REGIÓN DEL CUERPO MANDIBULAR PARA POSTERIOR CORTE Y OBTENCIÓN DE LOS BLOQUES DE 3 MM X 3MM X 1,2 MM	65
FIGURA 17. REMOCIÓN DEL BLOQUE DEL CUERPO MANDIBULAR DE LA HEMI-MANDÍBULA IZQUIERDA SUINA	65
FIGURA 18. DELIMITACIÓN DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR PARA REMOCIÓN Y OBTENCIÓN DE LOS BLOQUES DE 3 MM X 3MM X 1,2 MM	66
FIGURA 19. LAVADO EN ULTRASONIDO DE TODAS LAS MUESTRAS OBTENIDAS DE CADA GRUPO	66
FIGURA 20. ANÁLISIS DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE INICIAL PARA LAS MUESTRAS EN ESTUDIO.....	69
FIGURA 21. INDENTACIONES DE ANÁLISIS DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE INICIAL REALIZADAS CON EL INDENTADOR KNOOP (DISTANCIA ENTRE HENDIDURAS: 100 μ M / ENTRE FILAS: 200 μ M)	70
FIGURA 22. DISPERSIÓN - VALORES INICIALES DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE DE LAS MUESTRAS PRIMARIAS DE ESMALTE DENTAL.....	71
FIGURA 23. DISPERSIÓN- VALORES INICIALES DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE DE LAS MUESTRAS EXTRAS DE ESMALTE DENTARIO (SEGUNDO GRUPO).....	71
FIGURA 24. DISPERSIÓN - VALORES INICIALES DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE PARA LAS MUESTRAS EXTRAS DE ESMALTE DENTARIO (TERCER GRUPO).....	72

FIGURA 25. DISPERSIÓN - VALORES INICIALES DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE DE LAS MUESTRAS PRIMARIAS DE DENTINA RADICULAR	72
FIGURA 26. DISPERSIÓN - VALORES INICIALES DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE DE LAS MUESTRAS EXTRAS DE DENTINA RADICULAR (SEGUNDO GRUPO).....	73
FIGURA 27. DISPERSIÓN - VALORES INICIALES DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE DE LAS MUESTRAS PRIMARIAS DEL CUERPO MANDIBULAR.....	73
FIGURA 28. DISPERSIÓN - VALORES INICIALES DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE DE LAS MUESTRAS PRIMARIAS DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR.....	74
FIGURA 29. FUENTE GAMMACELL COBALTO-60	75
FIGURA 30. FUENTE GAMMACELL CON LA DOSIS PROGRAMADA PARA EL ESTUDIO PILOTO (10 GY DOSIS ÚNICA/ 2 GY FRACCIONADA)	76
FIGURA 31. MUESTRAS DEL ESTUDIO ACONDICIONADAS EN LAS PLACAS DE PETRI.....	77
FIGURA 32. MEDIA DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE PARA LA DETERMINACIÓN DE LA TASA DE DOSIS EN LA IRRADIACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	77
FIGURA 33. ANÁLISIS DE LA MICRODUREZA FINAL DE LAS MUESTRAS PARA EL CÁLCULO DEL PORCENTAJE DE LA PÉRDIDA DE DUREZA	80
FIGURA 34. MUESTRAS EN SOLUCIONES CRECIENTES DE ALCOHOL PURO PARA DESHIDRATACIÓN PROGRESIVA.....	81
FIGURA 35. MUESTRAS POSICIONADAS EN EL DISECADOR DE SÍLICE DESPUÉS DE LA DESHIDRATACIÓN	81
FIGURA 36. ESPECTRÓMETRO PARA ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS POR ATR-FTIR.....	83
FIGURA 37. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS POR LA TÉCNICA DE REFLEXIÓN TOTAL ATENUADA APLICÁNDOSE UNA FUERZA DE TORQUE DE 130 N	84
FIGURA 38. OBTENCIÓN DE LOS ESPECTROS POR TRANSFORMADA DE FOURIER	84
FIGURA 39. OBTENCIÓN DEL ESPECTRO BACKGROUND, EL CUAL SERÁ SUBTRAÍDO EN TODOS LOS ESPECTROS OBTENIDOS POR TRANSFORMADA DE FOURIER.....	85
FIGURA 40. MICRODUREZA DE SUPERFICIE INICIAL VERSUS MICRODUREZA DE SUPERFICIE FINAL DEL ESMALTE DENTARIO	88
FIGURA 41. MICRODUREZA DE SUPERFICIE INICIAL VERSUS FINAL EN LAS MUESTRAS DE DENTINA RADICULAR	90
FIGURA 42. MICRODUREZA DE SUPERFICIE INICIAL VERSUS MICRODUREZA DE SUPERFICIE FINAL DE LAS MUESTRAS DEL CUERPO MANDIBULAR	92
FIGURA 43. MICRODUREZA DE SUPERFICIE INICIAL VERSUS MICRODUREZA DE SUPERFICIE FINAL DE LAS MUESTRAS DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR	94
FIGURA 44. TEST DE T DE STUDENT PARA ANÁLISIS DE LAS MEDIAS (PROMEDIOS) Y ERROR ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE INICIAL Y FINAL DE LAS MUESTRAS EN ESTUDIO	103
FIGURA 45. MEDIA (PROMEDIO) DE LAS DIFERENCIAS DE LOS VALORES DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE INTERGRUPAL	108
FIGURA 46. MUESTRA DEL CUERPO MANDIBULAR ANTES DE LA IRRADIACIÓN GAMMA	109

FIGURA 47. MUESTRAS DEL CUERPO MANDIBULAR DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN GAMMA	110
FIGURA 48. MUESTRA DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR ANTES DE LA IRRADIACIÓN GAMMA	111
FIGURA 49. MUESTRA DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN GAMMA	112
FIGURA 50. MUESTRA DEL ESMALTE DENTARIO DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN GAMMA (500X).....	113
FIGURA 51. MUESTRA DE ESMALTE DENTARIO DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN GAMA OBSERVADA EN OTRO ÁNGULO (1000X).....	114
FIGURA 52. MUESTRA DE ESMALTE DENTARIO DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISTA DESDE OTRO ÁNGULO (2000X).....	114
FIGURA 53. MUESTRA DE ESMALTE DENTARIO DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISTA DESDE OTRO ÁNGULO (4000X).....	115
FIGURA 54. MUESTRA DE DENTINA RADICULAR DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA EN EL MODO COMPOSICIONAL DEL SEM (500X).....	116
FIGURA 55. MUESTRA DE DENTINA RADICULAR DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA A PARTIR DEL MODO TOPOGRÁFICO, CON UNA LENTE DE AUMENTO DE 1000X	116
FIGURA 56. MUESTRA DE DENTINA RADICULAR DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA A PARTIR DEL MODO COMPOSICIONAL DEL SEM, CON UN LENTE DE AUMENTO DE 2000X	117
FIGURA 57. MUESTRA DE DENTINA RADICULAR DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA A PARTIR DEL MODO TOPOGRÁFICO DEL SEM, CON UN AUMENTO DE 4000X	117
FIGURA 58. MUESTRA DEL CUERPO MANDIBULAR DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA A PARTIR DEL MODO COMPOSICIONAL DEL SEM, CON UN LENTE DE AUMENTO DE 500X	118
FIGURA 59. MUESTRA DEL CUERPO MANDIBULAR DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADO A PARTIR DEL MODO COMPOSICIONAL DEL SEM, CON UN LENTE DE AUMENTO DE 1000X	119
FIGURA 60. MUESTRA DEL CUERPO MANDIBULAR DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA CON EL MODO COMPOSICIONAL DEL SEM, CON UN LENTE DE AUMENTO DE 2000X	119
FIGURA 61. MUESTRA DEL CUERPO MANDIBULAR DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA CON EL MODO TOPOGRÁFICO DEL SEM, CON UN LENTE DE AUMENTO DE 4000X.....	120
FIGURA 62. MUESTRA DEL ESMALTE DENTARIO DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA A PARTIR DEL MODO COMPOSICIONAL DEL SEM, CON UN LENTE DE AUMENTO DE 300X	121
FIGURA 63. MUESTRA DEL ESMALTE DENTARIO DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADO CON EL MODO COMPOSICIONAL DEL SEM, CON UN LENTE DE CONTACTO DE 1000X ..	121
FIGURA 64. MUESTRA DEL ESMALTE DENTARIO DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA CON EL MODO COMPOSICIONAL DEL SEM, CON UN LENTE DE AUMENTO DE 4000X	122
FIGURA 65. MUESTRA DEL ESMALTE DENTARIO DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADO CON EL MODO COMPOSICIONAL DEL SEM, CON UN AUMENTO DE 5000X	122

FIGURA 66. MUESTRA DE DENTINA RADICULAR DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA CON UN LENTE DE AUMENTO DE 300X.....	123
FIGURA 67. MUESTRA DE DENTINA RADICULAR DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA RADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA CON UN LENTE DE 1000X	124
FIGURA 68. MUESTRA DE DENTINA RADICULAR DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA CON UN LENTE DE AUMENTO DE 4000X.....	124
FIGURA 69. MUESTRA DE DENTINA RADICULAR DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN GAMMA, VISUALIZADA CON UN LENTE DE AUMENTO DE 5000X.....	125
FIGURA 70. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LA MUESTRA CONTROL DEL ESMALTE DENTARIO.....	126
FIGURA 71. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL DEL ESMALTE DENTARIO.....	128
FIGURA 72. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LA MUESTRA CONTROL E IRRADIADA DEL ESMALTE DENTARIO.....	129
FIGURA 73. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LA MUESTRA IRRADIADA DEL ESMALTE DENTARIO.....	131
FIGURA 74. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO, DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA, DEL ESMALTE DENTARIO.....	132
FIGURA 75. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL DE LA DENTINA RADICULAR	133
FIGURA 76. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DE LA DENTINA RADICULAR	135
FIGURA 77. ESPECTROSCOPIA POR TRANSMITANCIA EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS IRRADIADAS DE LA DENTINA RADICULAR	136
FIGURA 78. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS IRRADIADAS DE DENTINA RADICULAR.....	138
FIGURA 79. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL DEL CUERPO MANDIBULAR.....	139
FIGURA 80. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	140
FIGURA 81. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	141
FIGURA 82. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	142
FIGURA 83. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	143
FIGURA 84. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	144

FIGURA 85. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	145
FIGURA 86. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	146
FIGURA 87. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	147
FIGURA 88. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	148
FIGURA 89. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO PARA LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	149
FIGURA 90. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	150
FIGURA 91. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN DEL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL E IRRADIADA DEL CUERPO MANDIBULAR.....	151
FIGURA 92. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS CONTROL DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR	152
FIGURA 93. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR.....	154
FIGURA 94. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS IRRADIADAS DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR	156
FIGURA 95. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO DE LAS MUESTRAS IRRADIADAS DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR.....	157
FIGURA 96. ESPECTROSCOPIA POR ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO MEDIO DE LAS MUESTRAS IRRADIADAS DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR	158

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. MEDIDAS DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE DEL ESMALTE DENTARIO	88
TABLA 2. MEDIDAS DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE DE LA DENTINA RADICULAR	90
TABLA 3. MEDIDAS DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE DEL CUERPO MANDIBULAR.....	92
TABLA 4. MEDIDAS DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE INICIAL Y FINAL DE LAS MUESTRAS DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR.....	94
TABLA 5. PROMEDIO Y ERROR ESTÁNDAR DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE EN EL ESMALTE DENTARIO	97
TABLA 6. TEST T DE STUDENT DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE DEL ESMALTE DENTARIO.....	98
TABLA 7. MEDIA (PROMEDIO) Y ERROR ESTÁNDAR DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE DE LA DENTINA RADICULAR	98
TABLA 8. TEST T DE STUDENT DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE EN LAS MUESTRAS DE DENTINA RADICULAR	99
TABLA 9. MEDIA Y ERROR ESTÁNDAR DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE DEL CUERPO MANDIBULAR....	100
TABLA 10. TEST T DE STUDENT DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE DEL CUERPO MANDIBULAR.....	101
TABLA 11. MEDIA (PROMEDIO) Y ERROR ESTÁNDAR DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE DE LAS MUESTRAS DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR	101
TABLA 12. TEST T DE STUDENT DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE DE LAS MUESTRAS DE LA REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR	102
TABLA 13. ANÁLISIS DE LA DIFERENCIA DE MICRODUREZA DE SUPERFICIE INTERGRUPAL.....	104
TABLA 14. PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE LOS GRUPOS ANALIZADOS A TRÁVES DEL TEST DE ANOVA ..	105
TABLA 15. TEST ESTADÍSTICO DE TUKEY PARA ANÁLISIS DE LA DIFERENCIA DE LAS MEDIAS DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE DE LOS GRUPOS EN ESTUDIO	106

INTRODUCCIÓN

Basados en los documentos del reporte mundial sobre el cáncer del año 2014 de la agencia internacional para estudios del cáncer, perteneciente a la organización mundial de la salud, es incuestionable que el cáncer es un problema de salud pública, específicamente entre los países e su-desarrollo, en los cuales, esperase en las próximas décadas que el impacto de esta enfermedad repercuta en un 80% de la población mundial y de los más de 20 millones de nuevos casos estimados para el año 2025. ^{1,2}

Para el caso de américa latina, la estimación del cáncer para el bienio 2016 y 2017 se señaló la ocurrencia de 600 mil nuevos casos de cáncer, exceptuándose el cáncer de piel no melanoma (el cual señaló aproximadamente 180 mil casos nuevos), aparecerá cerca de 420 mil nuevos casos de cáncer. Este perfil epidemiológico, asados en un análisis epidemiológico realizado por el instituto nacional de cáncer del estado de san pablo, Brasil, observó similitudes entre ambos perfiles epidemiológicos, tanto de Latinoamérica, el caribe y Brasil.

El cáncer de mayor prevalencia estimado para la población masculina fue el de próstata (61 mil) y para la población femenina fue el de mama (58 mil). Sin contar los casos de cáncer de piel no melanoma, los tipos más frecuentes según el tejido afectado, en la población masculina serán el de próstata (28,6%), pulmón (8,1%), de intestino (7,8%), de estómago (6 %), de cavidad bucal (5,2%). Para el caso de las mujeres, los cánceres de mama (28,1%), de intestino (8,6%), de cuello uterino (7 %), de pulmón (5,3%) y de estómago, figuran como los principales, ^{1,2}.

El cáncer se constituye en un problema de salud pública a nivel mundial, es por eso que el control de la enfermedad y los métodos de prevención, inicialmente, deberán ser priorizados en cada país. Los cánceres sigue un ciclo de desarrollo múltiple a lo largo de los años, por lo cual, muchos de estos podría ser abordados en una fase temprana, mediante la reducción de la tasa de exposición a factores

contribuyentes y determinantes. Si el potencial de malignidad fuera detectado antes de que los tumores tórnense malignos, el tratamiento podrá ser altamente eficaz y con altas probabilidades de cura.

Entre los tratamientos frecuentemente aplicados encuéntrese la radioterapia, la cual es ampliamente utilizada en diferentes centros de salud, como una terapia definitiva o coadyuvante del procedimiento quirúrgico convencional, principalmente, en cánceres de la región de cabeza y cuello. Sin embargo, altas dosis de radioterapia en áreas de grandes dimensiones, tales como la cavidad bucal propiamente dicha, el maxilar superior, la región mandibular y las glándulas salivales mayores, pueden verse comprometidas, constatándose a través de la aparición de efectos indeseables , de forma inmediata o tardía, donde la osteorradionecrosis (ORN) , es considerada probablemente la peor. ³

La ORN es una de las más severas y serias complicaciones orales del tratamiento radioterápico del cáncer de cabeza y cuello. Algunos autores ^{3,4} sostienen que, a pesar de la mejora en los cuidados orales realizados antes de la radioterapia, es decir, del acondicionamiento bucal preventivo recibido por el paciente oncológico, la incidencia de la ORN no disminuyó significativamente en los últimos años, presentando contrariamente, un aumento entre 1% a 3% de los nuevos casos de osteorradionecrosis en pacientes post irradiados. ³

La osteorradionecrosis es definida como el hueso necrótico irradiado y expuesto, el cual no cicatriza, por un período de tres meses o más, sin la presencia de restos neoplásicos o recurrencia del tumor maligno en el local afectado. Esta patología puede ser encontrada tanto en la región del maxilar superior así como en la región mandibular, con una alta tasa de incidencia al nivel del cuerpo mandibular y de la región del trígono retromolar, documentada en los últimos años, ^{3,4}. La sintomatología clásica de la osteorradionecrosis es caracterizada por un dolor intolerable, fractura patológica del hueso comprometido y secuestros de hueso desvitalizado, procesos fistulosos, lo cual produce incapacidad para los pacientes portadores de esta complicación de alimentarse normalmente. La causa de la aparición de la ORN en un tiempo menor a dos años después de la radioterapia se

debe a las altas dosis de radiación gamma recibidas, excediendo los 70 Gy, y concomitantemente la ejecución de algún procedimiento quirúrgico de exéresis después del tratamiento radioterápico. Actualmente fue establecido en la literatura, sobre la acción inespecífica de la radioterapia, la cual reduce la proliferación celular e la médula ósea, del tejido periosteal así como la producción de células endoteliales, además de los componentes de la matriz extracelular orgánica, siendo el colágeno uno de los principales elementos constituyentes de mayor comprometimiento.^{5, 6, 7, 8}

La fisiopatología de la ORN permanece aún si ser aclarada, por lo cual surgieron numerosas teorías se asa e los postulados de Marx^{3,4}, las cuales afirman que esta enfermedad debería ser considerada como una lesión que o cicatriza por cuestiones metabólicas y disturbios homeostáticos. Por otro lado, consideran que la orn resulta de un hueso que tornase hipóxico, hipocelular e hipovascular por afección de los vasos sanguíneos, cuyo proceso se conoce como endarteritis, y consecuentemente se obtiene un tejido desorganizado y friable, el cual no cicatriza. Actualmente, señalase una nueva hipótesis a respecto de la patogénesis de la ORN, proponiéndose un mecanismo de fibro- atrofia del tejido óseo inducido por la radiación ionizante, en el cual se incluye la formación de radicales libres, la disfunción endotelial, inflamación, trombosis microvascular, fibrosis y remodelación. Como consecuencia, el progreso de la osteorradionecrosis se debe a la activación y a la falta de regulación de la actividad fibroblástica, lo cual tornará, al tejido, atrofiado, dentro del área previamente irradiada.

Dentro de los factores de riesgo para el desarrollo de la osteorradionecrosis, una de las principales, consideradas por los autores,^{3,4}, es la radiación ionizante, cuyas diferentes modalidades incluye: la dosis total, la cantidad de energía por fotón, la aplicación de braquiterapia, el campo de irradiación y el fraccionamiento de la dosis. Aunque, se hayan desarrollado nuevas modalidades terapéuticas de radioterapia tales como la radioterapia de intensidad moderada (imrt), en la cual, a pesar de delimitadas porciones del maxilar superior y de la mandíbula reciben altas dosis de radiación, aún aparecieron lesiones de orn en los pacientes que fueron

sometidos a esta modalidad, es por aquello que surge la necesidad inmediata de realizarse más estudios complementares para un mejor entendimiento de la patogénesis de la ORN , específicamente, de la acción directa de la radiación ionizante sobre los tejidos duros de la cavidad bucal, y a partir de esos resultados, establecerse futuras modalidades en el tratamiento y prevención de los efectos deletéreos de la radioterapia.

De acuerdo con estudio³, la ORN es improbable de aparecer cuando se aplica una dosis menor a 70 Gy; sin embargo, otro estudio, señaló un aumento en la incidencia de la ORN en pacientes que recibieron dosis entre 65 a 70 Gy, teniéndose como dosis promedio 66 Gy.

Delante de la alta incidencia de la osteorradionecrosis como descrito anteriormente en los pacientes con cáncer de cabeza y cuello sometidos a la radioterapia, considerase que el presente estudio añadió datos inéditos en la literatura. La osteorradionecrosis es una complicación que disminuye la sobrevida del paciente irradiado de tal forma que causa procesos infecciosos de grande porte, evidenciados local o sistémicamente, y además de aumentar la morbilidad del paciente oncológico, disminuirá la cualidad de vida del paciente irradiado. Adicionalmente, la osteorradionecrosis podrá requerir de un tratamiento quirúrgico mutilante. Considerado lo descrito anteriormente, se propuso este estudio para una clara comprensión del mecanismo de acción de la radiación y sobre el desarrollo fisiopatológico por causa del efecto aislado y directo de la radiación ionizante, analizándose todos los tejidos duros de la cavidad bucal, con la finalidad de determinar *in vitro*, estas acciones directas ejercidas por la radiación lo que causaría la aparición de los efectos indeseables inherentes al tratamiento. ³

Un estudio reciente ⁵, del laboratorio de Biofotónica del instituto de pesquisas energéticas e nucleares – IPEN (San Pablo, Brasil) mostró que, aisladamente, el esmalte dental sometido a la radiación ionizante puede no ser más susceptible al proceso de desmineralización tal como sucede con el esmalte no irradiado, observado *in vitro*. La dentina radicular, que presenta mayor contenido orgánico que el esmalte, es la más afectada por la radiación gamma en comparación con el

esmalte y con la dentina coronal, siendo esta última más mineralizada, como demostrado en la literatura ^{6,8}.

En el paciente irradiado es de sobremanera importante que exista una adecuación del medio bucal antes del tratamiento radioterápico e se torna imprescindible, el hecho de poseer una alimentación de menor contenido calórico así como, la importancia de una higiene bucal, muchas veces monitoreada y controlada por el profesional clínico antes, durante y después del tratamiento con radiación ionizante. Entretanto, la dificultad creada en los pacientes sometidos a la radioterapia, principalmente por la incidencia de mucositis, rigidez muscular, y en el caso del tejido alveolar, la presencia de osteorradionecrosis, como efecto dosis dependiente, podría ocurrir tanto durante como después del tratamiento ionizante.

Aunque algunos estudios ^{5,6,8,9}, relataron resultados desfavorables en los tejidos de la cavidad bucal con mayor contenido orgánico después del tratamiento radioterápico; aún es necesario analizar la cantidad de pérdida mineral que ocurre en los tejidos duros sometidos a la irradiación. Considerándose que es indispensable investigar estrategias de prevención que actúen de una forma más prolongada en los tejidos irradiados y por otro lado, estos estudios son inviábiles de realizarse en los pacientes sometidos a radioterapia *in vivo*, desde el punto de vista ético, por consecuencia, surge la necesidad de desenvolverse un análisis *in vitro*.

La determinación de los efectos causados por la radiación ionizante a partir de un modelo *in vitro*, empleándose la dosis usada en pacientes afectados por cáncer de cabeza y cuello, en lo que respecta a la composición y microdureza de superficie de los tejidos duros, posibilitará un manejo y cuidado integral por parte del profesional clínico de las complicaciones inherentes a la radiación, favoreciendo en la disminución de la frecuencia de aparición de las mismas, alcanzándose la erradicación de estas; a través, del fraccionamiento de la dosis en las diferentes modalidades radioterápicas y del desarrollo de procedimientos preventivos antes de la ejecución de dicho tratamiento, todo aquello a partir de los datos obtenidos inicialmente *in vitro*.

De esta forma, se presentará en el transcurso de estas páginas la evaluación detallada, a partir de un modelo *in vitro*, de manera cualitativa y cuantitativa, sobre la composición y microdureza de superficie de los tejidos duros de la cavidad bucal sometidos a la radiación gama, mediante el análisis de las alteraciones morfológicas por microscopía electrónica de arrido; variaciones del contenido mineral por análisis de microdureza de superficie y finalmente las alteraciones bioquímicas en todos los tejidos duros irradiados por la técnica de reflexión total atenuada a través de la espectroscopia en el infrarrojo por transformada de *Fourier*.

CAPÍTULO I
CÁNCER EN EL MUNDO

1.1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER

La prevalencia del cáncer en el mudo ha aumentado en las últimas décadas (29,2 personas por 100,000 habitantes en la población americana según el instituto nacional de cáncer de los estados unidos)⁹, e por consecuencia las complicaciones subsecuentes al tratamiento de este, específicamente, en los pacientes con cáncer de cabeza y cuello. El cáncer en esta región, por ser tratado con diferentes métodos ampliamente conocidos, tales como la cirugía, la radioterapia, la quimioterapia y por las asociaciones entre estas modalidades terapéuticas.

1.2. CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO. GENERALIDADES

La región de cabeza y cuello, por el hecho de presentar estructuras susceptibles y radiosensibles, favorece la aparición de efectos indeseables en el campo irradiado e, inevitablemente, en las regiones circunscritas a dicho campo. Dentro de los efectos perjudiciales de esta modalidad terapéutica se destaca el comprometimiento y el rápido avance de la destrucción de los tejidos duros de la cavidad bucal, sea parcial o total, dependiendo del campo envuelto e la radiación o el volumen de tejido alcanzado.

Consecuentemente, habrá una disminución en la cualidad de vida del paciente sometido a períodos prolongados de radioterapia. Numerosos estudios ⁹, ¹⁰, ¹¹, ¹² evaluaron los efectos de la radiación ionizante en los tejidos duros humanos y los posibles factores contribuyentes para el desarrollo de la semiología propia de los efectos colaterales, ocasionados por la radiación gama. El protocolo seguido por la mayoría de los oncólogos en el tratamiento del cáncer de cabeza y cuello a nivel mundial, se basa en el tratamiento convencional, ⁹. El tratamiento consiste en la aplicación de una dosis total de 65 a 72 Gy, la cual será emitida por una fuente de irradiación de aja energía y alto potencial de penetración (radiación gamma, fuente cobalto-60 o con rayos x) con la finalidad de la energía alcanzar las capas más profundas de los tejidos comprometidos por la lesión maligna.

Esta dosis es dividida en fracciones diarias, de aproximadamente 1.8 a 2 Gy por día. Estas fracciones son administradas durante un período de 7 semanas, aplicadas por 5 días durante la semana, como máximo, y de forma intercalada.⁹

1.3. COMPLICACIONES DEL TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO. GENERALIDADES

A pesar de una planificación exhaustiva y cuidadosa por parte de los profesionales partícipes en el tratamiento del paciente, la radioterapia puede causar daños en los tejidos normales y las estructuras adyacentes en el campo de la radiación.¹⁰

Las estructuras primarias comprometidas en el desarrollo de los efectos indeseables son los tejidos dentarios, en los cuales la aparición de la caries de radiación producirá la destrucción parcial o total, de rápido avance, de los dientes de ambas arcadas. Por otro lado, estudios recientes han demostrado que las alteraciones físicas y biológicas en el diente, traerán consigo una inevitable modificación en las propiedades mecánicas y físicas, incluyéndose la pérdida de valores de microdureza de superficie (SMH), disminución de la resistencia a la tracción y la consecuente fractura del tejido,^{9, 10, 12}.

Con respecto al tejido óseo, la radioterapia ejerce un efecto deletéreo de importancia clínica, como descrito anteriormente, tornándolo hipóxico, hipovascular e hipocelular, por la afección de la irrigación sanguínea del parénquima óseo (proceso conocido como endarteritis), lo cual producirá necrosis del tejido, y se fuera sometido a algún procedimiento quirúrgico, conducirá a la exposición patológica del hueso por la incapacidad de cicatrización del lecho quirúrgico. Todo este proceso y la fisiopatología descritos forman parte de la osteorradionecrosis de los maxilares, presentada como uno de los efectos perjudiciales al hueso de difícil tratamiento,^{13, 14, 15}.

CAPÍTULO II

TEJIDOS DUROS DE LA CAVIDAD BUCAL

2.1 ESMALTE DENTAL

2. 1. 1. Propiedades físico-químicas del esmalte

El esmalte dental constituye la porción externa de la corona del diente, protegiendo a los tejidos subyacentes tales como la dentina coronal y radicular, además del tejido pulpar; de las agresiones externas, sean estas de naturaleza física, química o físico-química y bacterianas, durante los procesos funcionales de masticación y deglución. El esmalte se caracteriza por ser un tejido no vivo, no celular y de alto contenido mineral. Por el hecho de ser un tejido no celular, presentará incapacidad de regeneración y reparación; por consecuencia, la destrucción del tejido traerá futuros daños en el complejo dentino-pulpar.

La estructura normal del esmalte y su configuración geométrica hexagonal¹²,¹³, se basa en el hecho de presentar un complejo enmarañado de componentes orgánicos e inorgánicos, similar a una organización híbrida con niveles jerárquicos específicos. Los cristales de hidroxiapatita insertados en la malla de colágeno y la matriz extracelular, se encuentran entrelazados debido a la unión propiciada por la matriz orgánica, quien facilita la unión entre ellos. Los cristales configuran la estructura prismática del esmalte, constituyéndose la unidad básica, estructural y específica. La adecuada organización de los prismas del esmalte le confiere las propiedades mecánicas que caracteriza a este tejido duro, tales como la fuerza y dureza superior cuando se compara con otros tejidos mineralizados del cuerpo humano.¹²

El esmalte es compuesto, principalmente, de minerales. Entre los principales componentes minerales, encuéntrese los cristales de hidroxiapatita, los cuales representan la cristalinidad de los cristales de fosfato de calcio. Otros fosfatos de calcio y fosfatos de magnesio han sido identificados, asociados o no asociados con la apatita, tales como la *brushite*, el fosfato octacálcico entre otros cristales amorfos de pirofosfato de magnesio,¹².

El esmalte consiste en una matriz inorgánica (96%) y constituyentes orgánicos, proteínas y lípidos, además de agua, quienes conjuntamente

representan el restante 4%. Este material orgánico se encuentra distribuidos entre los cristales de hidroxiapatita ¹³.

El esmalte dental se forma a través de un proceso de mineralización, en el cual los ameloblastos secretan proteínas tales como la enamelinina, la amelogenina y la ameloblastina, las cuales se auto-organizan para conformar la matriz extracelular orgánica, que se tornará el almacén para la formación de la fase inorgánica. Antes y durante el proceso de maduración del tejido altamente mineralizado, el compuesto orgánico sufre una degradación y reducción de los elementos constituyentes, por medio de enzimas proteolíticas propias de la matriz extracelular, ^{14, 15}. El tejido remanente conformará la matriz orgánica del esmalte después de la erupción, la cual desenvuelve un rol importante con respecto a la resistencia entera del esmalte, la cual es constituida por proteínas insolubles distribuidas alrededor de la superficie dentinaria y de la unión amelo-dentinaria. Estudio reciente mostró que los terceros molares presentaron una capa de matriz orgánica que inicia de la unión amelo-dentinaria y se extiende 200-300 μm hasta la superficie externa del diente. Dentro de los elementos constituyentes de la matriz orgánica del esmalte, se encontraron el colágeno tipo iv , laminina, nidogenina , proteoglicanos, heparin sulfato y colágeno tipo vii, ¹⁵.

Por otro lado, el esmalte dental varía en espesura y densidad sobre la superficie dentaria, presentando mayor espesura al nivel de las superficies cortantes o masticatorias, sean bordes incisales o cúspides, además de una mayor dureza de las superficies anteriormente mencionadas. Un caso particular respecto a la comparación realizada por un estudio entre la dentición decidua y la permanente, e términos de espesura y dureza, el primer grupo presentará la mitad de espesura y una menor dureza de superficie que el segundo grupo. La dureza del esmalte es considerada cuatro veces mayor que la dentina. ^{13, 15}

2. 1. 2. Análisis ultra-estructural de los tejidos mineralizados

Los tejidos duros de la cavidad bucal presenta una composición inorgánica similar cuando se trata de las propiedades físicas, mecánicas y bioquímicas que hace de estas estructuras poseedoras de una compleja organización estructural y

composicional. Como descrito anteriormente, el esmalte dental presenta el mayor contenido orgánico de los tejidos duros de la cavidad bucal (96%), siendo los cristales de fosfato de calcio los elementos de mayor presencia, constituyendo la estructura cristalina y confiriendo para el esmalte, la dureza propia de este tejido, por la alta especialización y distribución de estos cristales de hidroxiapatita.

La matriz dentinaria es similar a la matriz de hueso mandibular en diferentes aspectos, presentando un padrón de mineralización similar al tejido óseo, a pesar de que este último posee un proceso de remodelación característico. El proceso de mineralización de los tejidos duros es inducido biológicamente por el organismo. Los cristales minerales crecen dentro de los espacios celulares y extracelulares, presentando diferentes orientaciones dentro del área del tejido,^{16, 17}.

Por otro lado, presentase el padrón de mineralización mediado por la matriz orgánica, por lo que el direccionamiento de los cristales de hidroxiapatita se orienta según las fibras de colágeno distribuidas dentro de esta. El proceso de mineralización del hueso y de la dentina es mediado por la matriz orgánica. Las macromoléculas que componen la matriz orgánica son responsables por la forma, la estructura, y el padrón de comportamiento de la mineralización. En el hueso y la dentina, la red de colágeno tipo I es el principal componente de la matriz orgánica. Existe un grupo de proteínas estructurales (glicoproteínas, proteoglicanos) y una fase de interacción entre el contenido mineral y una matriz de proteínas ácidas, y finalmente un grupo de enzimas modificadoras, quienes se encarga de degradar o modificar ciertas proteínas de la orgánica promoviendo la autorregulación del proceso de mineralización,¹⁶.

2.2 DENTINA RADICULAR

2.2.1 Propiedades físico-químicas de la dentina

A diferencia del esmalte dental, la dentina presenta un menor porcentaje de tejido mineralizado; sin embargo, una mayor cantidad de matriz orgánica y de agua. La dentina secundaria o, coloquialmente llamada de dentina madura, es constituida aproximadamente de 70% de matriz inorgánica, 20% de matriz orgánica extracelular y 10% de agua. La configuración geométrica de los cristales de hidroxiapatita en la

dentina difiere en tamaño y forma, presentándose como placas planas con una dimensión de 60 a 70 μm de longitud, 20-30 μm de ancho y 3-4 mm de espesor. Los niveles de calcio y fósforo en el diente, particularmente en la región coronal y radicular, oscila entre los siguientes intervalos: 34-39% y 16-18% del peso total respectivamente, además de los numerosos cationes y aniones que son incorporados en la forma catiónica (Ca^{+2}) y en los centros anódicos, en la matriz de hidroxiapatita. Alrededor de 40 elementos químicos han sido reportados como constituyentes del tejido dental, encontrándose distribuidos en toda la estructura dentaria, y cuyo intervalo oscila entre > 1000 ppm (tales como Zn, Sr, Fe, Al, B, Ba, Pb, etc) a ≤ 100 ppb (tales como Ni, Li, Ag, As, Se, Nb, Hg, etc.). Toda la composición química descrita anteriormente influenciará en las propiedades físico-químicas y en el comportamiento biológico de los tejidos duros que componen el diente humano, tal como se relacionó, en estudio previo, la presencia del elemento zinc y la dureza del diente, ¹².

Estudios recientes, ^{12, 14, 15}, del análisis comparativo entre la composición química del esmalte y de la dentina mostraron las diferencias esenciales de su tejido para con el otro, como descrito para el caso del porcentaje de carbono y nitrógeno, encontrados en mayor cantidad en la dentina que en el esmalte. Por otro lado, los niveles de magnesio se presentan en mayor proporción en la dentina radicular que en el esmalte dentario, destacándose el comportamiento biológico de este elemento, similar al caso del Zinc y el Estroncio, lo que explicaría por qué la relación Ca/P en la dentina es menor que en el esmalte, siendo el magnesio el principal sustituto del calcio, de forma directa en la estructura de los cristales de apatita, ^{12, 15}.

La dentina es considerada más dura que el tejido óseo; sin embargo, de menor dureza que el esmalte dentario, debida a la composición inorgánica descrita y al menor porcentaje de cristales de fosfato de calcio (comparada respecto al esmalte) ^{12, 16}. El hecho de la dentina y el esmalte ser dos estructuras no homogéneas y anisotropicas, además de no seguir la ley de Hooke, las diferencias

entre las propiedades mecánicas se basan en los valores de estrés y de tensión aplicados, considerándose el módulo de elasticidad de ambos tejidos.^{12, 14, 15}

Según Chun et al.¹⁸, que realizó un estudio estandarizado con muestras de esmalte y dentina sobre las mismas condiciones de experimentación, el esmalte dental presentó mayor fragilidad delante de las fuerzas de tensión y estrés aplicadas en los testes de compresión utilizados, cuando se comparó dichos resultados con los de la dentina; por otro lado, destacó que el principal rol ejecutado por el esmalte dentario es de proteger a la dentina durante las fuerzas de masticación por su alta resistencia a las fuerzas de desgaste. Con respecto a la dentina, esta presentó una mayor resistencia a las fuerzas de masticación debido a la absorción de aquellas y a su mayor módulo de elasticidad.

2.3 TEJIDO ÓSEO

2.3.1 Características generales del tejido óseo humano

El tejido óseo, que forma parte del grupo especializado del tejido conjuntivo, presenta propiedades importantes para el buen funcionamiento y homeostasis humana: aparte de proporcionar soporte y estructura al cuerpo, sirve de palanca para la función motora de los músculos esqueléticos, ya que protege los órganos internos además de cumplir un rol fundamental en la fisiología y mecánica muscular.

El tejido óseo está conformado, en líneas generales, por una matriz inorgánica, orgánica y por agua. La matriz inorgánica representará un mayor porcentaje composicional (aproximadamente de 65%), una matriz orgánica compuesta principalmente de fibras de colágeno representado por un 25% del peso total del tejido y un porcentaje de agua aproximadamente de 10%,¹⁹.

2.3.1.1. Matriz orgánica y ligaciones cruzadas de colágeno

Siendo el colágeno la proteína de mayor presencia en el tejido óseo, específicamente, con respecto al hueso mandibular, representa alrededor del 30% del peso líquido del total de proteínas que conforman las otras regiones del cuerpo humano. Dentro de las funciones que esta proteína presenta, se destacan el

mantenimiento de la integridad estructural del tejido propiamente dicho y de la capacidad de conferir ductilidad a diversos tejidos y órganos, ^{16, 19}.

El colágeno tipo I presenta una organización estructural distribuida en fibras que tienen origen en la microfibrila. A través de las interacciones de las moléculas de tropocolágeno, se tiene la formación de las microfibrilas, las cuales constituyen la menor unidad estructural del tejido conjuntivo. Una vez formadas las microfibrilas, se inicia el proceso de agregación denominado fibrillogénesis, con la finalidad de formar fibrillas insolubles y las cuales serán mantenidas por ligaciones cruzadas intramoleculares (entre las mismas unidades de tropocolágeno) e intermoleculares (entre diferentes unidades de tropocolágeno) y también por ligaciones electrostáticas que les atribuyen estabilidad. Dentro de las principales ligaciones cruzadas de colágeno, encontradas en el hueso cortical, principalmente, en el hueso humano, existen las ligaciones cruzadas enzimáticas inmaduras(reductibles) , las ligaciones cruzadas maduras (no reductible), las cuales unen las microfibrilas vecinas, y ligaciones cruzadas inducidas por glicación no enzimática (AGES), las cuales forman tanto ligaciones cruzadas de colágeno intermoleculares e interfibrilares, ^{16, 19}.

La capacidad de resistir a la tensión, depende de la formación de ligaciones cruzadas covalentes intermoleculares, entre las subunidades de proteínas individuales, pues proporcionan resistencia al cizallamiento de estas proteínas. Es importante destacar que la extensión del tipo de ligación cruzadas varía con la edad del tejido y su función, ya que durante el crecimiento del individuo, el aumento de la tensión en las fibras de colágeno provoca un aumento en el número de ligaciones cruzadas con el objetivo de producir las propiedades mecánicas ideales para determinada función en el organismo. Estas ligaciones son responsables por las propiedades viscoelásticas del tejido óseo, ^{16, 19}.

2.3. 2. Características generales del tejido óseo suino

En el presente estudio se incluyeron muestras de mandíbula suina, a partir de bloques del cuerpo mandibular y de la región retromolar, cuya forma de obtención de las muestras será descrita posteriormente en este libro.

Los suinos, como modelo biológico, son usados desde algunas décadas atrás en las investigaciones de tipo experimental, debido a las semejanzas en la estructura interna y al metabolismo óseo similar en ambos casos, ²⁰.

En el ser humano, las áreas de hueso haversiano son reabsorbidas más intensamente que en el hueso lamelar intersticial¹⁶, situación que podría suceder en el cerdo. Los procesos metabólicos y las propiedades funcionales, así como las densidades y características histológicas óseas en los cerdos presentan similitud evidenciada como en los humanos, ^{20, 21, 22, 23, 24}.

Las características presentadas por el tejido óseo suino son mencionadas a continuación:

2. 3. 2. 1. Macroestructura suina

Con respecto a la anatomía, morfología, cicatrización y remodelado óseo, el cerdo presenta características muy semejantes al hueso humano. Sin embargo, el suino presenta una red trabecular más densa que los humanos.

2. 3. 2. 2. Microestructura suina

Aunque el hueso suino presente una red trabecular densa, el cerdo tiene una estructura ósea lamelar semejante a la humana.

2. 3. 2. 3. Composición ósea

El puerco presenta una densidad ósea mineral y concentración de minerales esparcidos en redes óseas semejante al hueso humano, ^{21, 22, 23, 24, 25}.

2. 3. 2. 4. Remodelado óseo

Cuando se compara el remodelado óseo del cerdo con el humano, los suinos presentan semejanzas, abarcando las áreas de hueso trabecular y el hueso intra-cortical, en los cuales se basan los principios de remodelado óseo. Según la literatura ²⁵, las medidas de regeneración ósea encontradas en los cerdos fueron muy semejantes a las de los humanos (1,2-1,5 mm y 1,0-1,5 mm por día respectivamente). El grado de mineralización de la cortical ósea después de la

aplicación de fluoruro en cerdos en crecimiento, usados como grupo control fue similar a los humanos, ^{21, 23, 24, 25}.

CAPÍTULO III
CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO

3. 1. GENERALIDADES. CONCEPTOS BÁSICOS.

El cáncer de la región de cabeza y cuello, forma parte de las patologías que conducen a óbito cuando no son tratadas oportunamente, colocándose en segundo lugar, dentro de los factores causales de muerte en el mundo entero. Las estructuras que conforman la región de cabeza y cuello más afectadas por el cáncer son: la cavidad bucal, la orofaringe, la amígdala, la base de la lengua, la glándula tiroides, y la glándula paratiroides. Según la última estimación del cáncer en Brasil por el Instituto Nacional del Cáncer "José Alencar Gomes da Silva" ¹, se calculó para este país, para los años 2016 y 2017, la aparición de 11, 140 casos nuevos de cáncer de la cavidad bucal en hombres y 4, 350 en mujeres. Eso explicaría la alta incidencia del cáncer en los pacientes con factores de riesgo asociados, tales como el etilismo, el tabaquismo, y, se incluyó recientemente, las infecciones por el Virus del Papiloma Humano (HPV), específicamente, por las cepas 16 y 18, entre los adultos jóvenes. Este último factor de riesgo se asocia principalmente a los tumores en la región de la orofaringe, la amígdala y la base de la lengua.

El tipo de cáncer con mayor prevalencia en la cavidad bucal es el carcinoma de células escamosas, cuyo diagnóstico es realizado clínicamente y por estudio complementario de imágenes, confirmándose en la totalidad de los casos con el análisis anátomo-patológico de la lesión, con la finalidad de obtener un diagnóstico definitivo, ^{1, 2, 26, 27, 28, 29}.

El efecto sinérgico producido por el etilismo y el tabaquismo aumentan las probabilidades de la aparición de las neoplasias malignas en la región de la cavidad bucal, presentándose un riesgo de 65 % en los pacientes alcohólicos y fumadores, ^{1, 26, 28, 29}.

Con respecto al cáncer de la glándula tiroides, se presenta por factores genéticos y ambientales, prevaleciendo, el mayor número de casos por influencia ambiental, sea por radiaciones ionizantes o por deficiencia nutricional de YODO en determinadas poblaciones. El cáncer de tiroides es más frecuente en el sexo femenino que en el masculino, y según la estimación del cáncer por el INCA, en Brasil, ¹, para el año 2016 se calcularon 1,090 casos nuevos de cáncer de tiroides

para el sexo masculino y 5,870 casos para el sexo femenino, con un riesgo estimado de 1,08 casos a cada 100 mil hombres y 5,70 casos a cada 100 mujeres.

3. 2. EPIDEMIOLOGÍA: PREVALENCIA E INCIDENCIA DEL CÁNCER EN LA REGIÓN DE CABEZA Y CUELLO

La prevalencia del cáncer en la región de cabeza y cuello según el Instituto de Cáncer de los Estados Unidos, en el año 2014, fue de 29, 2 personas por 100, 000 habitantes. El continuo crecimiento poblacional, bien como el envejecimiento, tendrá un impacto del cáncer en el mundo. Ese impacto recaerá, principalmente, sobre los países de mediano y bajo desarrollo, donde según la IARC/OMS, ocurrirá mitad de los casos nuevos y cerca de dos tercios de óbitos por cáncer, ^{2, 26}.

En Brasil, según la estimación del INCA, para los años de 2014 y 2015 fue de aproximadamente 576 mil casos nuevos en el país, ², cuando se compara con los resultados obtenidos recientemente por el mismo instituto para los años 2016-2017, presentase un leve aumento de la cantidad de casos, el cual apunta a la aparición de 600 mil casos nuevos de cáncer en Brasil, ¹.

Las estructuras de la región de cabeza y cuello con mayor número de casos de cáncer son la cavidad bucal y la glándula tiroides, los cuales presentan una tasa de prevalencia e incidencia superiores a las otras estructuras, según la estimación del cáncer para el bienio 2016-2017, como descrito anteriormente. Esto trae, considerablemente, la necesidad de establecerse programas y protocolos de prevención para reducir el número de morbimortalidad en la población afectada, incluyéndose el manejo de las complicaciones inherentes a las modalidades terapéuticas, cuando ya establecido el proceso tumoral maligno, dentro del planeamiento de prevención y control de la enfermedad, ^{1, 2}.

3.3. TERAPÉUTICA DEL CÁNCER: OPCIONES DE TRATAMIENTO

Las modalidades terapéuticas para el tratamiento del cáncer en la región de cabeza y cuello han evolucionado en los últimos años. La asociación entre la radioterapia y la quimioterapia, llamada de “quimio-radiación”, para un estadio avanzado de la lesión, ha mejorado el control local de la enfermedad y de la tasa de supervivencia de los pacientes afectados, ²⁶. Sin embargo, esta técnica ha

reportado un mayor número de casos de efectos deletéreos e indeseables en los tejidos irradiados propiamente y los sub y suprayacentes, tales como síntomas de quemadura local y gradual, además de la disminución de la calidad de vida del paciente irradiado, ^{26, 28, 29}.

Entretanto, las técnicas del tratamiento convencional del tumor, tales como la cirugía de remoción de la lesión, la cual dependerá del estadio del cáncer, así como las diferentes modalidades de radioterapia, aún son utilizadas por los médicos cirujanos de cabeza y cuello, oncólogos y por el equipo multidisciplinario partícipes del manejo del paciente afectado. Nuevas técnicas radioterápicas han sido empleadas para un mayor y mejor control de las complicaciones en los tejidos saludables circunscritos. Dentro de esas nuevas modalidades se encuentran la Radioterapia de Intensidad Modulada (*IMRT*), la Radioterapia tridimensional conformacional (*3D Conformal Radiation Therapy*), usadas como técnicas que reducen el volumen de tejido irradiado; y, además de otros esquemas que implican el fraccionamiento de la dosis, tales como el Hiperfraccionamiento, el fraccionamiento acelerado, ambas estrategias efectivas que buscan mejorar el control del tumor en tiempo y espacio, ^{26, 27, 28, 29, 30}.

CAPÍTULO IV

RADIACIÓN IONIZANTE. RADIACIÓN GAMMA. RADIOTERAPIA

4. 1. RADIACIÓN IONIZANTE Y SU INTERACCIÓN CON LA MATERIA

La radiación considerada ionizante es aquella capaz de causar la eyección de electrones de los orbitales de los átomos o moléculas. El término de radiación ionizante se refiere a toda radiación capaz de generar iones por el desplazamiento de los electrones provenientes de las moléculas o átomos, de forma directa o indirecta. Los iones y electrones formados son capaces de generar radicales libres altamente reactivos que pueden desencadenar reacciones químicas con los otros compuestos o entre sí. Dichas interacciones podrán llevar a alteraciones en las propiedades físicas y químicas de los materiales.^{19, 27}

La radiación ionizante, en sus diferentes formas, varía de poco, desde los rayos X e gamma (γ), a partículas altamente cargadas de energía utilizadas como emisores alfa naturales, a lo más pesado de la alta energía. Estas radiaciones son generalmente clasificadas por su densidad de ionización en términos de transferencia de energía lineal (*LET*), definida como la cantidad de energía depositada por unidad de longitud. Las radiaciones de bajo *LET* producen dosis-respuestas curvilíneas con la finalidad de inducir aberraciones cromosómicas. La mayor parte de daños visibles microscópicamente resultan de la exposición a la radiación ionizante, lo que podrá causar deformaciones en los cromosomas, que en este caso son denominadas aberraciones,¹⁹.

Las radiaciones electromagnéticas ionizantes son más penetrantes recorriendo grandes espesuras antes de sufrir la primera interacción debido al hecho de estas no presentar carga y masa de reposo. La penetración del haz, depende de la probabilidad o sección de choque de interacción para cada tipo de evento. El mecanismo, por el cual la radiación electromagnética ionizante interactúa con la materia, es una función compleja de la energía de radiación, del número atómico del material y del tejido y la densidad del medio,^{19, 27}.

La interacción ocurre por medio de tres mecanismos principales de ionización y depósito de energía: el primero conocido como efecto fotoeléctrico, el efecto *Compton* y la producción de un par *electron-positron*. Esta radiación recorre distancias considerables antes de transferir parte o toda su energía para la materia,

interactuando eventualmente cuando se compara con las radiaciones directamente ionizantes,¹⁹.

El Cobalto-60 es un material ampliamente utilizado para la irradiación, sea para radioterapia, esterilización de aloenxertos, tratamiento de hilos metálicos, entre otros. Este es obtenido a partir del bombardeo por neutrones del Cobalto-59, y presenta las siguientes características: vida media de 5,24 años, y una energía de fotón entre 1, 17 MeV y 1, 33 MeV. Es imprescindible recordar que el material biológico es compuesto principalmente por C, H, O, N cuyos números atómicos son ZC=12, ZH= 1, ZO= 16, ZN=14. Se consideramos que la irradiación del material biológico por fotón gamma emitidos por Cobalto-60, es posible observar que habrá predominancia del efecto *Compton*.¹⁹

4. 1. 1 Transferencia Lineal de Energía (*LET*)

La transferencia lineal de energía (*LET*) define la cantidad de energía promedio depositada en la materia por unidad de distancia recorrida (KeV/m). El valor obtenido se relaciona directamente con la masa y la carga de la radiación ionizante.³¹

Algunas técnicas pueden ser usadas, ya que a *LET* es utilizada para observar, comparar y cuantificar los efectos biológicos de la radiación ionizante, tales como el análisis de las aberraciones cromosómicas mitóticas, el método de condensación prematura de los cromosomas (*FISH*). Dentro de estas técnicas, la que presenta mayor ventaja es la de fluorescencia, por ser un método de análisis más detallado, preciso y rápido,³².

Comparando la radiación de baja *LET* con la de alta *LET*, esta última induce una alta frecuencia de rupturas y reajustes de los cromosomas altamente complejos,³². Entretanto, algunos de los tipos de daños cromosómicos pueden facilitar la transformación de las células en oncogenes y carcinógenos, muerte celular y aberraciones cromosómicas. El conocimiento exacto de los efectos biológicos es muy importante para estimar los riesgos de la radiación ionizante y establecer los estándares para una radioprotección adecuada,³².

4.1. 1. 1 Radiación de bajo LET

Las radiaciones consideradas de bajo LET son los rayos X, la radiación γ , y las partículas β . Como se describió anteriormente, la LET es definida solamente para radiaciones constituidas por partículas cargadas y con masa. La inclusión de los rayos X y de la radiación gamma se debe al hecho de que después de la primera interacción con la materia, aparecen electrones por el efecto fotoeléctrico, por esparcimiento *Compton*, y por la formación de pares. Es por aquello, que tales radiaciones son también denominadas de baja LET, de forma indirecta. La radiación de baja LET se adapta al modelo cuadrático o al cuadrático lineal, ³³.

4.1. 1. 2 Radiación de alta LET

Las radiaciones consideradas de alta LET, tales como las partículas alfa (α), iones pesados, fragmentos de fisión e neutrones, son aquellas que poseen un alto poder de ionización e una alta tasa de transferencia de energía en un determinado medio. Para el mismo valor de la dosis absorbida, son las que inducen mayores daños biológicos, ³³.

A pesar de que la radiación de alta LET es fraccionada, esta ocasiona grandes daños biológicos debido al mayor chance de comprometer células más radiosensibles. La radiación de alta LET puede producir baja LET a través de electrones secundarios.

La alta LET se adapta al modelo lineal ($Y=\alpha D + \beta D^2$, donde Y es la tasa de dosis absorbida, D es la dosis, α y β son los coeficientes de regresión que determinan la forma y la inclinación de la curva, siendo α el coeficiente de regresión lineal y β el coeficiente de regresión cuadrática de la dosis) para la inducción de los fragmentos cromosómicos dicéntricos, otro tipo de presentación de aberraciones cromosómicas, ³⁴.

4.2 EFECTOS BIOLÓGICOS DE LA RADIACIÓN IONIZANTE

La radiación ionizante, además de interactuar con la materia, desarrollará un efecto en el tejido blanco alcanzado. Lo cierto es que la mayoría de esos efectos son perjudiciales y altamente destructivos, llamándolos de efectos deletéreos o

indeseables según el grado de destrucción causados en las células blanco. Actualmente, existe una clasificación según la Comisión Internacional de Protección Radiológica (ICRP), ³³, clasificando los efectos biológicos de las radiaciones ionizantes como efectos estocásticos y efectos determinísticos. La exposición a altas dosis de radiación en breves intervalos de tiempo, producirá efectos agudos y de corta duración, cada uno de ellos dependiendo exclusivamente de la dosis administrada en el tejido blanco. Generalmente, el uso de altas dosis de radiación tienden a erradicar el mayor número de células, en este caso, las células tumorales de rápida división ; sin embargo; la radiación ionizante por el mecanismo inespecífico que esta presenta, afectará también a las células normales, y consecuentemente, dañará los tejidos y órganos adyacentes al campo de irradiación. Esto, puede provocar una respuesta rápida por parte de los tejidos afectados denominada síndrome agudo de la radiación. Por otro lado, en el caso de la exposición a bajas dosis de radiación gamma, en un período de tiempo más extenso, se producirá efectos crónicos o de larga duración debido a la cantidad de irradiación acumulada. En estos tejidos sometidos a dosis bajas de radiación gamma, la radiación tenderá a dañar y modificar las células en un largo período, por lo cual se presentará efectos no inmediatos o tardíos, afectando principalmente los niveles celulares, y por consecuencia, los resultados podrán ser observados después de pasados muchos años.

En el caso de pacientes afectados por el cáncer de cabeza y cuello sometidos a la radioterapia gamma, presentase los dos tipos de efectos en la mayoría de los casos analizados en la literatura, ^{3, 4, 7, 27, 28}. En un primer momento, se han observado reacciones inmediatas en los tejidos blandos adyacentes al órgano blanco sometido a la radiación, tales como la mucositis de radiación, la cual es un efecto inmediato de la radioterapia de aparición temprana, durante las primeras se haberse iniciado el tratamiento, lo que demuestra una reacción aguda de la mucosa bucal, faríngea y yugal, principalmente afectadas.

Por otro lado, el efecto acumulativo de la radiación gama en algunos órganos y tejidos pertenecientes al campo de irradiación se manifestará de forma crónica,

en algunos casos dosis-dependientes como es el caso de las glándulas salivales (dosis mayor a 30 Gy),²⁹ y por otro lado en periodos largos después de la radioterapia, tal como la osteorradionecrosis mandibular o maxilar, de aparición después de tres a seis meses de haberse concluido el tratamiento radioterápico, teniéndose como factor agravante el trauma quirúrgico o en algunos casos, según los estudios científicos,^{28, 29} de aparición espontánea después de dos años de radioterapia.

Con respecto a la clasificación de los efectos biológicos de las radiaciones ionizantes es necesario establecer diferencias sustanciales entre estos para obtenerse una visión clara de cuándo y por qué de la presencia de estos como consecuencia del tratamiento radioterápico. Para el caso de los efectos determinísticos dependerán principalmente de la cantidad de dosis administrada en el tejido blanco, es decir, dependen exclusivamente de la tasa de dosis y de la dosis total recibida por el órgano o tejido. En este caso, la severidad del efecto aumentará con el aumento de la dosis de la radiación. Sin embargo, para el caso de los efectos estocásticos no existirá un umbral de dosis, dicho de otro modo, los efectos no dependerán de la tasa de dosis o de la dosis total recibida en un determinado periodo de tiempo. Consecuentemente, los efectos estocásticos no tienen umbral de dosis y la severidad no depende de la dosis, presentándose tanto para dosis altas como para dosis bajas,³³.

4.3 RADIOTERAPIA

4.3.1 Fundamentos de la radioterapia gamma

La radioterapia gamma forma parte del conjunto de modalidades terapéuticas en el tratamiento del paciente con cáncer de cabeza y cuello, constituyendo una de las primeras alternativas para los casos de neoplasias invasivas con alta tasa de metástasis. La radioterapia gamma, conforma descrito anteriormente, presenta altos índices de penetración en los tejidos, por lo cual alcanzará a las células tumorales para su completa erradicación; sin embargo, las células normales serán afectadas en la misma magnitud. La acción inespecífica de la radiación gamma hace con que aparezcan efectos secundarios, del tipo deletéreo o indeseable, en los

tejidos adyacentes, tales como las glándulas salivales, mucosa oral, sistema estomagotónico, entre otras estructuras de grande importancia en la región. La dosis de radioterapia seleccionada para cada paciente dependerá del grado de comprometimiento de la lesión maligna, la localización y el uso de la radioterapia como única modalidad de tratamiento o en combinación con las otras alternativas. Actualmente, la dosis empelada con respecto a la radioterapia gamma convencional, en la mayoría de nosocomios a nivel mundial, oscila entre 50 a 70 Gy, subdivididas en fracciones de 1,8 - 2 Gy por día. El fraccionamiento de la dosis fue e es actualmente usado debido a la respuesta generada por los tejidos tumorales y normales, la cual se diferencia con respecto al tiempo de reparo del DNA dañado. Además de presentar la ventaja para el reparo del DNA, el fraccionamiento de la dosis permitirá una población mayor de nuevas células entre los intervalos de tiempo y, específicamente, durante el período de descanso, en el cual los tejidos no serán sometidos a la irradiación gamma; por consecuencia, se reduciría los efectos inmediatos de la radiación,^{26, 29}.

Otra ventaja presentada por el fraccionamiento de la dosis es el hecho de los tejidos tumorales radiorresistentes son oxigenados entre las fracciones, convirtiéndolos en células oxigenadas radiosensibles, y por lo tanto, se conseguirá una reducción favorable de la masa tumoral. Sin embargo, esto se aplica a tumores malignos de rápida proliferación, tales como los carcinomas epidermoides de lengua, de piso de boca y de glándulas salivales. A pesar de haberse implementado nuevas modalidades de radioterapia y un planeamiento exacto para la aplicación de técnicas convencionales, las alteraciones en los tejidos adyacentes aún se han manifestado.

Los efectos indeseables inmediatos afectan las estructuras que presentan un metabolismo acelerado, así como un rápido recambio celular (mucosa bucal). Por otro lado, con respecto a los tejidos con un recambio celular demorado, los efectos aparecerán inclusive después del término del tratamiento radioterápico,²⁹.

La finalidad de un tratamiento radioterápico eficiente es erradicar las células tumorales malignas; sin embargo, también es preservar la mayor cantidad de

células sanas, con respecto a la función, morfología, fisiología y viabilidad, así como reducir al mínimo los daños al organismo, ^{26, 27, 29}.

Nuevas modalidades de irradiación gamma han surgido en los últimos años con la intención de disminuir los efectos colaterales producidos por la radioterapia en los tejidos suprayacentes y subyacentes a la lesión maligna, unas con esquema de fraccionamiento diferente del convencional, como es el caso del hiperfraccionamiento de la dosis o el fraccionamiento acelerado de la dosis utilizada. El otro grupo se caracteriza por la disminución del volumen del tejido irradiado, tales con la Radioterapia conformacional de tres dimensiones (3D) y la Radioterapia de intensidad modulada (IMRT). Sin embargo, los efectos indeseables de estas modalidades, para el caso del primer grupo, han prevalecido como es el caso de la mucositis oral presentándose una exacerbación de la lesión en el local cuando se asoció con la quimioterapia; y por otro lado, los efectos encontrados en el segundo grupo, aunque hayan sido encontrados en menor cantidad y frecuencia, por el hecho de ejercer una acción local de mayor intensidad de dosis, con un menor compromiso de las estructuras adyacentes, se han reportado efectos indeseables inmediatos y tardíos, ^{27, 28, 29}.

4.3.2 Complicaciones de la radioterapia

4.3.2.1 Mucositis oral y afección de las glándulas salivales

Numerosas secuelas orales por causa de la radioterapia han aparecido en la región de cabeza y cuello después del tratamiento. El comprometimiento de estas estructuras adyacentes al campo irradiado, la tasa de dosis, el estadio de la lesión tumoral, la radiación utilizada y los factores locales contribuyentes son los principales agentes causantes del surgimiento de estos efectos indeseables. Sin embargo, la radioterapia *per se* constituyese en un factor esencial para el desarrollo de las complicaciones, por el mecanismo de acción inespecífico, sea directo o indirecto, que esta ejerce sobre los tejidos. Las estructuras frecuentemente afectadas son la mucosa oral, las glándulas salivales, los dientes, ambos maxilares y la región de la orofaringe. Por otro lado, otras estructuras propias del sistema

estomagotónico pueden verse afectadas, tales como la musculatura de la región maxilofacial, de la región orbitaria, la lengua, entre otras.

Dentro de las complicaciones de aparición temprana, se encuentra la mucositis oral. Debido a que la mucosa bucal presenta un metabolismo acelerado, además de un recambio celular rápido, favorece su comprometimiento, ²⁹. La respuesta de la mucosa oral frente a la radioterapia es el resultado de la muerte celular epitelial en la fase de mitosis, siendo que el ciclo celular de las células queratinocíticas basales es de aproximadamente cuatro días.

4.3.2.2 Caries de radiación. Generalidades. Fisiopatología

Por otro lado, la caries de radiación que afecta los dientes de ambas arcadas dentarias, se caracteriza por un rápido avance de la destrucción estructural, generalmente, después de tres meses de haberse iniciado la radioterapia. Los efectos deletéreos de la radioterapia sobre el esmalte y la dentina aún permanecen sin ser aclarados. Sin embargo, el efecto indirecto de la radiación ionizante, como descrito, a través de la radiólisis del agua, facilita la destrucción de la matriz orgánica y disolución de los cristales de hidroxiapatita tanto del esmalte como de la dentina. No obstante, existen factores contribuyentes tales como la reducción de la tasa de flujo salivar, hábitos del paciente y la alimentación de alto contenido calórico, que intervienen en el proceso destructivo, ^{17, 26, 27}. En consecuencia, la acción directa de la radiación gamma sobre los tejidos duros con respecto a la pérdida de minerales, disminución de la dureza de superficie en el esmalte y la dentina requieren de una prolija investigación, ¹⁷. La superficie del esmalte es el área de mayor afcción por parte de la radioterapia, ²⁷.

Estudios recientes, ^{27, 28, 30} demostraron que la pérdida de las propiedades biomecánicas del esmalte dentario así como de la dentina, fueron los principales agentes causales de la rápida progresión de los efectos en estas estructuras. La desintegración y consecuente pérdida de la estructura prismática generará microabrasiones en la superficie, tornándolo rugoso por causa de la desmineralización. El hecho de la radiación gamma alterar el proceso odontoblástico, con la inevitable obliteración de los túbulos dentinarios, constituirá

un tejido con vascularización comprometida y la necrosis será evidente por la falta de nutrientes. La microdureza de superficie será gravemente comprometida, y la creciente degeneración celular en el espacio amelo-dentinario conjuntamente con los fenómenos físicos envueltos en la masticación y la colonización bacteriana hará con que el riesgo para el desarrollo de la caries de radiación aumente, ^{14, 17, 26}.

Paralelamente al avance de la caries de radiación por los factores anteriormente mencionados, la afección de las glándulas salivales por la radiación gamma se tornará uno de los factores de alto impacto en la calidad de vida del paciente, con la consecuente disminución del flujo salivar debido a un acúmulo superior a 30 Gy de la dosis total usada, ^{14, 17, 27, 28, 29, 35, 36, 37, 38}.

La hiposalivación (disminución del flujo salivar) y la xerostomía (sensación de boca seca) subsecuente son dos complicaciones inmediatas de la radioterapia cuyo proceso es considerado reversible por algunos autores, ^{14, 26}, e irreversible por otros, ^{28, 29}, pero con una repercusión muy significativa en la calidad de vida del paciente, debido del perjuicio causado en la ejecución normal de las funciones vitales del ser humano, tales como la masticación, la deglución, la fonación, cambios en la degustación, dificultades en el habla, un aumento del índice de la caries de la radiación y el progreso de la misma, además de contribuir con la aparición de la complicación tardía de la radioterapia: la osteorradionecrosis de los maxilares (ORN), ^{36, 37, 38}

4.3.2.3 Osteorradionecrosis de los maxilares.

La osteorradionecrosis es definida como la exposición de hueso irradiado necrótico que no cicatriza en 3-4 meses de finalizado el tratamiento radioterápico sin evidencia de recurrencia del tumor resecado, ³⁷. Esta patología puede ser encontrada tanto en la región del maxilar superior cuanto en la región mandibular, con una alta incidencia en la región del cuerpo mandibular y de la región retromolar documentada en los últimos años, ^{39, 40, 41, 42}.

La sintomatología clásica de la ORN se caracteriza por un dolor intolerable, y cuando agravado, fractura patológica del hueso comprometido, secuestros de

hueso desvitalizado y procesos fistulosos. Todo eso produce una incapacidad para alimentarse normalmente por parte de los pacientes sometidos al tratamiento. La causa de la aparición de la ORN en un tiempo menor a dos años después de la radioterapia se debe a las dosis de radiación absorbida de más de 70 Gy, y concomitantemente, la realización de algún tipo de procedimiento quirúrgico en el hueso previamente irradiado. La radioterapia reduce la proliferación celular en la médula ósea, del periostio, y de las células endoteliales así como la proliferación de componentes de la matriz extracelular tal como el colágeno, ⁴³.

La patogénesis de la ORN permanece sin ser aclarada. Numerosas teorías se basan en los postulados de Marx, ^{26,39}, que afirman que esta patología debería ser considerada como una herida post operatoria que no cicatriza por cuestiones metabólicas y disturbios homeostáticos. Otros autores, ^{44, 45} consideran que la ORN resulta de un hueso que se torna hipóxico, hipovascular e hipocelular por el comprometimiento de los vasos sanguíneos, cuyo proceso se conoce como endarteritis, e consecuentemente, se obtiene un tejido desorganizado y friable que no cicatriza. Actualmente, los autores, ^{46,47} señalan una nueva hipótesis con respecto a la fisiopatología de la ORN, proponiendo un mecanismo de fibro-atrofia del tejido óseo inducido por la radiación ionizante, incluyendo la formación de radicales libres, disfunción endotelial, inflamación, ,trombosis microvascular, fibrosis y remodelación. Como consecuencia, el progreso de la ORN se debe a la activación e no regulación de la actividad fibroblástica que torna, al tejido, atrofiado dentro del área previamente irradiada. Un último estudio histopatológico e histomorfométrico, ⁴⁶, realizado en muestras de pacientes sometidos a irradiación gama se refiere al hecho del hueso mandibular poseer un alto contenido de calcio. Cuando se compara con las otras estructuras adyacentes a esta región, este tejido absorbe 30 a 40 % a más de la radiación ionizante que las otras estructuras epiteliales, de tejido mole suprayacentes, por lo que este factor se tornará contribuyente y decisivo en los que respecta a la aparición de los efectos deletéreos que sucederán en esta estructura ósea bajo ciertas condiciones (factores locales y sistémicos).

Dentro de los factores de riesgo para el desenvolvimiento de la ORN, una de las principales considerada por los autores es la radiación ionizante, cuyas diferentes modalidades incluyen la dosis total, la cantidad de energía por fotón, la braquiterapia, el campo de irradiación comprometido, y el fraccionamiento de la dosis,^{29, 38, 42}. Aunque, se hayan desarrollado nuevas modalidades de radioterapia, tales como la Radioterapia de Intensidad Modulada (IMRT), en la cual pequeños volúmenes de tejidos pertenecientes a los maxilares reciben altas dosis de radiación, aún se han reportado casos de ORN en los pacientes sometidos a estas modalidades terapéuticas. De esta forma, se hace necesario de mayores estudios para el esclarecimiento de la fisiopatología de la ORN con el objetivo de encontrarse futuras modalidades en el tratamiento y medidas preventivas de este efecto indeseable de la radioterapia,^{26, 39, 42}. Entre otros factores de riesgo para la ORN y, considerado uno de los principales, independiente de la radioterapia, hallase el trauma en el hueso causado por un agente físico externo, en este caso, el quirúrgico, específicamente, la exodoncia después del tratamiento radioterápico, con todo, la literatura manifieste la aparición de forma espontánea de la ORN en algunos pacientes sin histórico previo de remoción dentaria. El abuso en el consumo del alcohol, así como el uso de cigarro, son claramente identificados como factores que propician el surgimiento de la ORN,^{26, 29}.

La necesidad de disminuir la tasa de incidencia de la ORN en los maxilares depende básicamente de encontrar herramientas o métodos preventivos ejecutados antes de los pacientes ser sometidos a la radioterapia. La incidencia de ORN es tres veces más alta en pacientes con dientes que en pacientes sin dientes, debido al riesgo de realizar alguna extracción dentaria durante o inmediatamente después del tratamiento radioterápico, además de posibles afecciones periodontales, por lo cual, el hecho de que el paciente oncológico reciba radioterapia, esto deberá ser tomado en cuenta para realizare un minucioso e intensivo acondicionamiento bucal antes de iniciarse la irradiación propiamente dicha,²⁹.

Actualmente, existen diversas modalidades en el tratamiento de la ORN, desde el tratamiento conservador hasta cirugías altamente mutilantes por fracturas

patológicas de la mandíbula, ^{29, 39, 42}. La terapia con oxígeno hiperbárico, ³⁵, viene colocándose como una de las alternativas coadyuvantes del tratamiento convencional antes y después de la ejecución de algún tipo de procedimiento quirúrgico en los maxilares. En el caso del tratamiento conservador, el uso de una medicación basada en antioxidantes y vitamina E, con lo cual se busca una aceleración en el proceso de cicatrización del tejido, además de ambos tornarse potentes agentes antifibróticos. El uso de antibióticos se establece, con el intento de disminuir la carga bacteriana de la herida post operatoria, y no como un tratamiento definitivo para la cura de la lesión. Con respecto al tratamiento quirúrgico, los mayores avances vienen dándose en la cirugía reconstructiva, con el desarrollo de la cirugía microvascular, específicamente, con el uso de colgajos miocutáneos y de colgajos libres microvascularizados, lo que favorece la readaptación de la continuidad de los tejidos a nivel mandibular, así como, proporcionarles suplemento sanguíneo para el tejido adyacente no irradiado, ^{39, 41}.

CAPÍTULO V
TÉCNICAS DE ANÁLISIS

5. 1 ANÁLISIS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

5. 1. 1. Fundamentos generales

El análisis por la microscopía electrónica de Barrido posibilita la producción de una imagen de la superficie de esmalte dentario, dentina radicular y hueso mandibular (cuerpo mandibular y región del triángulo retromolar), muestras que hicieron parte del estudio a ser detallado en el transcurso de este libro.

El fundamento físico de esta técnica se basa en la emisión de un haz de electrones, donde una parte de los electrones primarios incidentes puede ser retenida en los átomos de las muestras desplazando simultáneamente los electrones de las órbitas de estos átomos. Los electrones eyectados por el haz de electrones primarios son referidos como electrones secundarios, lo cuales al ser emitidos, promueven un desequilibrio energético, pues los electrones secundarios poseen un nivel de energía inferior a los átomos primarios. Esta diferencia de energía disipada en forma de rayos X, lo cual es característico en términos de energía y de longitud de onda (γ) para cada elemento expuesto al haz de electrones primarios, se toma en cuenta que parte de la muestra que emite electrones secundarios captados para la formación de la imagen, proviene de la superficie y se restringe al área iluminada por el haz y que definirá la resolución de la microscopía,⁵

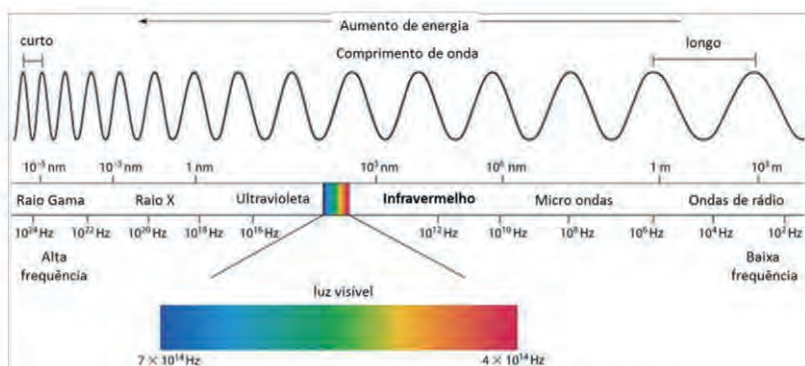
La microscopía electrónica de barrido proporcionó las características imaginológicas de las muestras obtenidas antes y después de la irradiación gamma, observándose los cambios morfológicos y estructurales de cada grupo sometido a la radioterapia, con la ventaja de que cada muestra fue analizada en diferentes aumentos, con una mayor cantidad de detalles que fueron explorados.

5. 2 ANÁLISIS POR LA ESPECTROSCOPIA EN EL INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE *FOURIER* (FTIR). TÉCNICA POR REFLEXIÓN TOTAL ATENUADA (ATR)

5. 2. 1 Espectroscopia en el infrarrojo por transformada de *Fourier*. Generalidades.

Llamase de espectroscopia a las técnicas de análisis que utilizan la interacción de la radiación electromagnética con la materia, en la obtención de informaciones físicas y químicas sobre el material analizado, ^{19, 48, 49, 50, 51}. En la espectroscopia en el infrarrojo, con sugerido en el nombre, se hace uso de la región en el infrarrojo del espectro electromagnético, que corresponde a las longitudes de onda de 0,78 μm a 1000 μm , como es presentado en la **Figura 1** a continuación:

Figura 1. Espectro electromagnético con detalle en la región del infrarrojo



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

La radiación infrarroja es definida como una radiación no iónica y ni visible, de baja energía, que no promueve transiciones electrónicas en el material. Por conveniencia, los análisis espectroscópicos, la unidad de medida usada para representar la radiación en el infrarrojo es el número de onda, representado por la siguiente ecuación:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$$

Donde $\bar{\nu}$, corresponde al número de onda y λ a la longitud de onda. Este es proporcional a la energía de onda electromagnética e inversamente proporcional a la frecuencia, siendo normalmente presentado en la unidad de cm^{-1} ,¹⁹.

En lo que respecta al número de onda, la región del infrarrojo corresponde a la región espectral de 12.800 cm^{-1} a 10 cm^{-1} , siendo la sub-región del infrarrojo medio (4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}) la más común en los análisis espectrales, principalmente las bandas de 4.000 cm^{-1} a 670 cm^{-1} , debido a la grande cantidad de elementos orgánicos que absorben la radiación electromagnética en esta región espectral,¹⁹,
48, 51.

La técnica de espectroscopia de infrarrojo se basa en la absorción de la radiación electromagnética por el material. Las moléculas de un material están en constante movimiento y poseen una frecuencia natural de vibración. Cuando el movimiento de los átomos promueve una variación en la distribución de las cargas (cambios en el momento dipolo), se crea un campo eléctrico. Si la radiación incidente en el material posee la misma energía que el campo eléctrico generado, estos interactúan y la radiación incidente es absorbida. Por lo tanto, dos condiciones son necesarias para que ocurra la absorción:

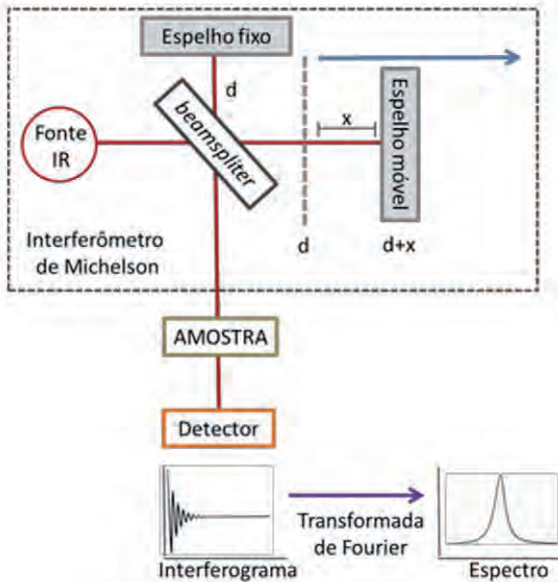
1. La molécula necesita sufrir una variación en el momento dipolo, y
2. La radiación incidente debe tener la misma frecuencia de vibración de la molécula. De esta forma conociendo la frecuencia de radiación absorbida, es posible identificar el compuesto responsable por la absorción,¹⁹.

Actualmente los equipos más utilizados para análisis por la espectroscopia en el infrarrojo son los espectrofotómetros con transformada de *Fourier*, cuyo funcionamiento se basa en el principio del interferómetro de *Michelson*. En el interferómetro de *Michelson*, un haz de radiación paso por un *beamsplitter* (un espejo semi-reflexivo) y es dividido en dos partes. Una parte del haz es reflejado por un espejo fijo y la otra parte es reflejada por un espejo móvil. Cuando ambas partes se recombinan, existirá una diferencia entre los caminos ópticos recorridos,

generando una diferencia de fase entre las ondas electromagnéticas. Dependiendo de esta diferencia, las interacciones entre las parcelas del haz pueden ser constructivas o destructivas,¹⁹.

La **Figura 2**, a continuación muestra el funcionamiento de los espectrofotómetros con la transformada de *Fourier*. En estos, la radiación emitida por la fuente de la radiación infrarroja pasa por un interferómetro antes de incidir en la muestra. La radiación no absorbida por la muestra incide en un detector, es generado un gráfico de intensidad detectada en función de la diferencia de fase entre las parcelas del haz, llamado de interferograma. La transformada de *Fourier* es usada para alterar la representación de esa respuesta, y transformar el interferograma en un gráfico que representa la cantidad de radiación detectada en función de la frecuencia de la radiación, llamado espectro.

Figura 2. Interferómetro de *Michelson*, funcionamiento y la transformada de *Fourier*



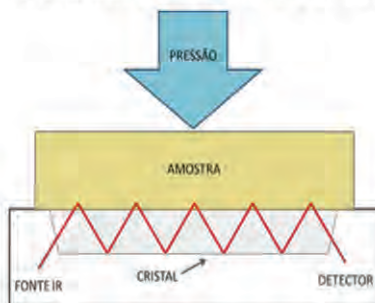
Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

5. 2. 2 Técnica por reflexión total atenuada (ATR)

Los equipamientos de espectroscopia en el infrarrojo permiten el uso de diferentes técnicas para la adquisición de los espectros, como por ejemplo: por transmisión, reflexión, reflexión total atenuada o reflexión difusa, además de las técnicas asociadas a microscopia. Dentro de estas, la técnica por reflexión total atenuada (ATR) es bastante utilizada por necesitar poco o ninguna preparación de las muestras, ¹⁹.

Básicamente, la técnica de ATR consiste en la reflexión de un haz que incide en un ángulo crítico que pasa de un medio más denso (un cristal) para un medio menos denso (en este caso la muestra). En esta condición, una pequeña parcela de la radiación incidente (llamada de onda evanescente) penetra pocos micrómetros en el medio (muestra), pudiendo ser absorbida. Cuando ocurre la absorción, el haz de luz sufre una atenuación, siendo posible identificar las bandas de absorción de la muestra y, consecuentemente, los componentes. El esquema de funcionamiento del accesorio ATR es representado en la **Figura 3** , ilustrada a continuación:

Figura 3. Técnica por reflexión total atenuada



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

El medio, en el cual el haz se propaga inicialmente, es compuesto por un material de alto índice de refracción, normalmente un cristal de diamante, de

seleniuro de zinc (ZnSe) o germanio (Ge). La proporción del haz de luz reflejado varía con el ángulo de incidencia, habiendo un ángulo crítico donde la reflexión es total, a depender del cristal utilizado como elemento de reflexión, ^{19, 48}.

La profundidad de penetración de la radiación en la muestra depende de la longitud de onda de la radiación, del ángulo de incidencia de este con la muestra, y de los índices de refracción del cristal del equipo y del material analizado. Por ejemplo, la profundidad de penetración en la región del infrarrojo medio para el tejido óseo varía de 0,5 m a 5 m aproximadamente, ^{19, 48}.

En los equipos de ATR-FTIR convencionales, un detector de elemento único es utilizado, y apenas un espectro es obtenido en cada medida, representando el espectro promedio de la región alcanzada por el haz de luz. En la imaginología ATR-FTIR, es utilizado un detector FPA (*focal plane array*) que permite la adquisición simultánea de espectros de un área de la muestra. Al final del análisis, se obtiene una imagen espectral donde cada pixel de la imagen representa un espectro de la región correspondiente de la muestra, y no apenas el espectro promedio. El desarrollo de esta técnica posibilitó analizar una región específica de la muestra de forma simple y rápida, ¹⁹.

CAPÍTULO VI
METODOLOGÍA DEL ESTUDIO *IN VITRO*

6. 1 MATERIALES Y MÉTODOS. GENERALIDADES

El presente estudio *in vitro*, el cual será descrito en el transcurso de las próximas páginas de este libro, fue desarrollado en el Instituto de Pesquisas Energéticas y Nucleares – IPEN, con el apoyo institucional y financiero de la Comisión Nacional de Energía Nuclear – CNEN/ de la ciudad de San Pablo, en Brasil. Para cada procedimiento incluido en esta parte experimental, fueron usadas las instalaciones de los laboratorios pertenecientes al Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA), del Centro de Tecnología de las Radiaciones (CTR) y del Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM), todos dentro del IPEN, autarquía asociada a la Universidad de San Pablo (USP).

Para la parte experimental propiamente dicha, se utilizaron dientes terceros molares humanos y mandíbula suina con previa aprobación de los comités de ética: 1) del comité de ética en humanos de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Pablo, USP, Protocolo 43/2008 y 2) por el comité de ética en el uso de animales, CEUA, del Instituto de Pesquisas Energéticas y Nucleares, IPEN, con el parecer del proyecto – Número 114/14-CEUA-IPEN/SP.

6. 2 CORTE Y OBTENCIÓN DE LOS BLOQUES DE ESMALTE DENTAL Y DENTINA RADICULAR

Fueron seleccionados 50 terceros molares humanos saludables provenientes del banco de dientes de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Pablo (USP), los cuales se mantuvieron en solución de Timol (concentración de 1g/L) por 48 horas y refrigerados a 4 grados Celsius. Después de la descontaminación inicial de los dientes, estos fueron colocados en un recipiente con agua destilada y desionizada para iniciar la separación de las coronas y las raíces, con la finalidad de obtenerse los bloques de esmalte dentario y de dentina radicular.

Se utilizó un instrumento de alta rotación (pieza de mano) con una punta diamantada, y se realizaron cortes al nivel del límite amelocementario (UCA). Posteriormente, los bloques fueron despulpados, es decir, se retiró todo el tejido pulpar remanente, utilizándose las curetas para raspaje y alisado radicular

(*Millenium* 13 MC y número 34 recta, número 35 curva; *Millenium* 28 biactiva de punta fina, SP, Brasil). Enseguida, estos fueron sometidos a la limpieza con ultrasonido (Lavadora Ultra Sónica *Unique-Thomton, Unique Ind. E com. Ltda*, SP, Brasil) por un período de 30 minutos divididos en dos ciclos de 15 minutos para eliminación de los restos orgánicos no removidos completamente. Los bloques fueron colocados en Beckers (vaso de precipitados) de 20 ml de volumen, con agua destilada y desionizada y posicionados en el centro de la cuba de la lavadora previamente abastecida con agua, y después del primero ciclo de lavado de 15 minutos, se realizó el descarte del agua, realizándose el cambio de recipientes para el inicio del segundo ciclo de lavado. Después del segundo ciclo, el agua de los recipientes fue nuevamente descartada, colocándose nuevamente agua destilada para el almacenamiento de las muestras con una refrigeración de 4 grados Celsius para los posteriores análisis macroscópicos.

Luego, los bloques fueron sometidos a la profilaxis y raspaje rigurosa con la finalidad de eliminarse los detritos y tártaro remanentes en la superficie coronal y radicular. Se utilizó una pasta profiláctica compuesta de piedra pomes y agua destilada, de uso odontológico. Para la profilaxis, fue utilizado un micromotor y un contra-ángulo de utilidad odontológica (*Dabi Atlante*, SP, Brasil), y en seguida, las raíces fueron sometidas al raspaje con curetas para el alisado radicular. Inmediatamente, las coronas y raíces fueron sometidas a limpieza en el ultrasonido, por un período de 30 minutos divididos en dos ciclos de 15 minutos, como se describió anteriormente, para la eliminación de los probables tejidos orgánicos remanentes o de la pasta profiláctica. Posteriormente, los bloques fueron secados con papel absorbente durante 5 minutos a temperatura ambiente para evaluación macroscópica mediante lupa estereoscópica.

Para el análisis macroscópico de los bloques obtenidos, se establecieron criterios de inclusión y exclusión, los cuales incluyeron las coronas y raíces libres de defectos visibles y manchas blancas, excluyéndose los bloques que no cumplieron con las características mencionadas.

Con respecto al corte y obtención de los bloques de esmalte dentario y dentina, se realizó la fijación de las coronas y raíces seleccionadas en una lámina de acrílico de aproximadamente 4 cm de longitud por 5 cm de diámetro, en la cual se utilizó cera amarilla (**Figura 4**) colocado en un mechero de Bunsen, en el cual se calentó hasta derretirse y obtenerse una cera caliente. Luego, esta fue transportada a la lámina de acrílico mediante un goteador metálico. Fue colocada una gota de cera para un inicial posicionamiento de uno de los bordes de la corona, paralelo al borde lateral de la lámina, y por último, se realizó la fijación de los otros bordes laterales de la corona.

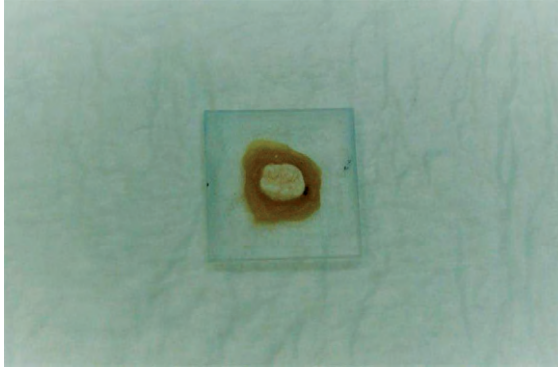
Figura 4. Mechero de Bunsen junto a la cera amarilla utilizada



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

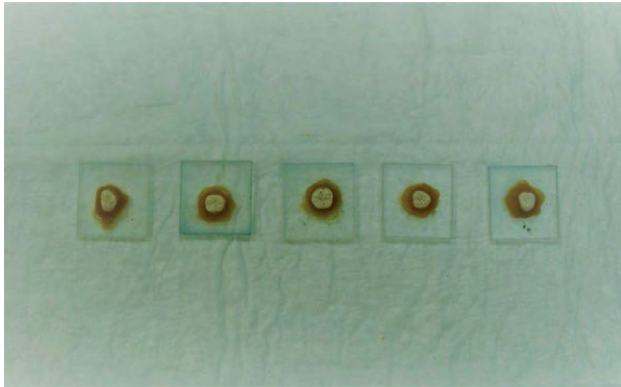
Con la corona ya fija a la lámina (**Figura 5** y **Figura 6**), se efectuó un corte en sentido transversal y horizontal en la cortadera manual (*Isomet, Buehler, SP, Brasil*), con un disco diamantado de aluminio de grano fino (*Struers, SP, Brasil*). La corona sujeta al corte fue posicionada en el ángulo deseado en relación al brazo mayor del equipo y se direccionó el disco para el seccionamiento de la corona en sentido transversal, con una distancia de 3mm x 3mm (**Figura 7**), aproximadamente, entre corte y corte hasta alcanzar la parte basal de la corona, obteniéndose los bloques de esmalte dental (**Figura 8**).

Figura 5. Corona dentaria fijada a la lámina de acrílico con cera amarilla



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 6. Distribución de las coronas obtenidas y fijadas a la lámina de acrílico



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 7. Corte manual de las coronas dentarias en la cortadera *Struers*



Fuente: Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

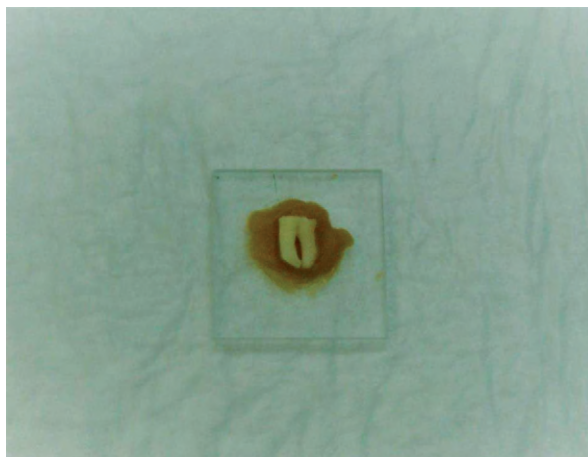
Figura 8. Corona dentaria después del corte para la obtención de los bloques de esmalte



Fuente: Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Para el corte de las raíces, fue realizado un procedimiento similar al preparo de esmalte descrito anteriormente, con la fijación previa de la raíz (**Figura 9** y **Figura 10**) y subdividiéndose en tres líneas imaginarias la superficie frontal en dirección transversal y horizontal. Se obtuvieron los bloques de dentina radicular de aproximadamente 3 mm x 3 mm x 1,2 mm, (**Figura 11**).

Figura 9. Raíz dentaria fija a la lámina de acrílico antes del corte manual



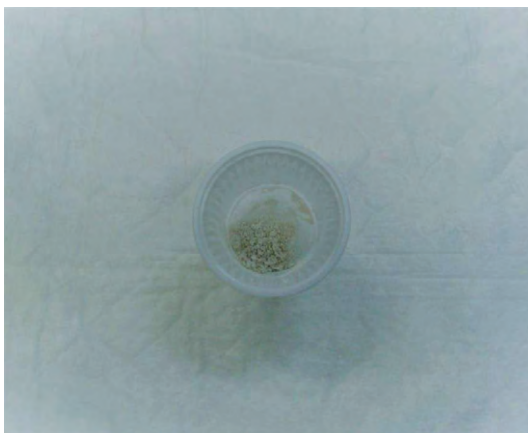
Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 10. Distribución de las raíces dentaria fijas en la lámina de acrílico para el corte manual



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 11. Bloques de corona y raíz dentarias después del corte manual



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

6. 3 PULIMENTO DE LOS BLOQUES DE ESMALTE DENTAL Y DENTINA RADICULAR

6. 3. 1 Pulimento de los bloques de esmalte dental

Una vez que se obtuvieron los bloques de esmalte y dentina radicular, estos fueron sometidos al pulimento manual para análisis de la microdureza inicial de superficie. Los bloques fueron montados en la lámina de acrílico, fijados con cera amarilla como descrito anteriormente. Para el caso de los bloques de esmalte dental, fue fija a la lámina de acrílico, en un primer instante, la superficie de esmalte propiamente dicha con la finalidad de realizarse el pulido de la dentina remanente y de esta forma obtenerse una superficie plana y totalmente paralela a las aristas de la lámina en uso.

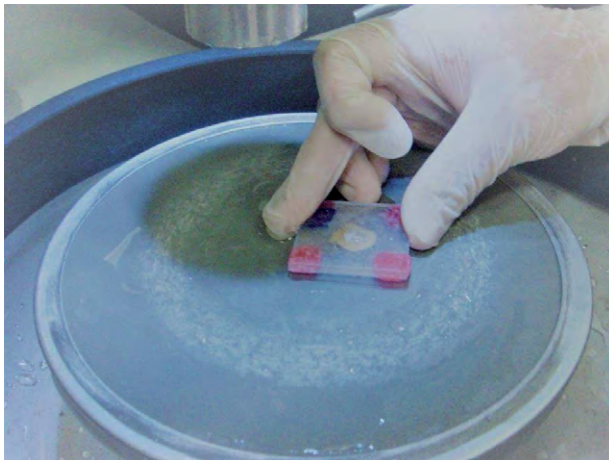
En seguida, los bloques fueron pulidos en la politriz (**Figura 12**), para lo cual fueron usados discos de lija de gramatura de diferentes granos (**Figura 13**): se inició con el disco de 400-800 de grano grueso, con irrigación durante 15 segundos y una velocidad de giro de 100 rpm; posteriormente, se utilizó un disco de mayor grano de 600-1200, bajo refrigeración durante 10 segundos y con una velocidad de giro de 100 rpm. Luego, se usaron los discos de 2500 durante 10 segundos y con una velocidad de 100 rpm, finalizándose con un disco de grano fino de 4000 durante el tiempo y velocidad similar al de los anteriores discos. El pulido manual fue completado con el ultra-pulimento (**Figura 14**) de los bloques con la solución diamantada de 1 μm (*Buehler*, SP, Brasil), sin irrigación y esta esparcida en el disco de fieltro y ejecutado con una velocidad de 300 rpm durante un minuto.

Figura 12. Polítrix utilizada para el pulimento de las muestras en estudio



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN-SP, Brasil)

Figura 13. Pulimento manual de las muestras con discos de lija de gramatura de diferentes granos (grosos)



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 14. Ultra-pulimento de las muestras con solución diamantada, disco de fieltro y velocidad de giro de 300 rpm



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

El procedimiento descrito fue realizado también para la superficie de esmalte propiamente dicha, la cual fue direccionada hacia la superficie externa, y consecuentemente, la dentina pulida fue dirigida hacia la lámina de acrílico, fijándola con cera en los bordes laterales de forma cuidadosa, con la finalidad de evitarse el contacto entre la cera y la superficie interna del bloque.

Al finalizar el pulido de los bloques, las muestras obtenidas de esmalte dental fueron sometidas al lavado en ultrasonido durante 40 minutos, subdivididos en 5 ciclos de 8 minutos cada uno, y se descartó el agua destilada en cada ciclo. Los vasos de precipitados, junto con las muestras, fueron llenados de agua destilada y desionizada durante 24 horas para posterior fijación de las muestras en la lámina de acrílico.

6.3.2 Pulimento de los bloques de dentina radicular

Los bloques de dentina radicular fueron pulidos con la metodología usada para los bloques de esmalte. Ambas superficies del bloque de dentina radicular fueron pulidas hasta obtenerse una superficie plana y aproximadamente de 3 mm x 3 mm x 1,2 mm; realizado en la politriz con los discos de lija de gramatura conforme con el protocolo realizado anteriormente. Finalmente, estos fueron sometidos al ultra-polimento con una solución diamantada de 1 μm , sin refrigeración y con una velocidad 300 rpm durante un minuto.

Al finalizar el pulimento de los bloques, las muestras obtenidas de la dentina radicular fueron sometidas al lavado en ultrasonido, como descrito para el caso anterior.

6.4 OBTENCIÓN Y PREPARO DE LAS MUESTRAS DE HUESO MANDIBULAR SUINO

Fueron seleccionadas mandíbulas suinas de 15 cm de longitud por 10 cm de ancho, adquiridas en el Frigorífico *Raia* (*Carapicuíba*, SP, Brasil). Las mandíbulas fueron lavadas con abundante agua destilada y desionizada, enseguida, fueron almacenadas en recipientes estériles en el *freezer*, con la intención de mantener los tejidos biológico no removidos y no utilizados, bajo una temperatura de -88 grados Celsius.

Se realizó el proceso de remoción del tejido blando remanente (**Figura 15**), en el laboratorio de preparación de muestras biológicas del Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA), tales como el retiro de fascias musculares, músculos propiamente dichos y ligamentos provenientes del tejido mandibular del animal. Se usó una hoja de bisturí número 15, un mango de bisturí número 3, además de una pinza para tejidos sin dientes, con la finalidad de prensar el tejido en el momento de la exéresis definitiva.

Por otro lado, se realizó un lavado profuso de la pieza quirúrgica con agua destilada y desionizada inmediatamente después de la remoción completa de los tejidos remanentes, obteniéndose una estructura limpia y homogénea superficialmente. Durante el proceso de esqueletización mandibular, las piezas quirúrgicas fueron depositadas en un sobre plástico de cierre hermético y estos almacenados bajo una temperatura de -88 grados Celsius para conservación de los tejidos remanentes no removidos.

Figura 15. Preparo y esqueletización de las mandíbulas suinas



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Las piezas quirúrgicas fueron divididas en dos mitades para un manejo óptimo de las hemimandíbulas, derecha e izquierda. Se obtuvieron bloques provenientes del cuerpo mandibular (**Figura 16**), a través de la remoción manual con un motor de baja rotación, usándose un disco diamantado de aluminio y disco de carburundum metálico (**Figura 17**), para lo cual se realizó una irrigación abundante con agua destilada hasta la obtención final del bloque, para de esta forma disminuir el efecto térmico generado después de cada corte. En el caso de los bloques provenientes de la región del trígono retromolar (**Figura 18**), se realizó de forma exacta el procedimiento anteriormente descrito.

Figura 16. Delimitación de la región del cuerpo mandibular para posterior corte y obtención de los bloques de 3 mm x 3mm x 1,2 mm



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 17. Remoción del bloque del cuerpo mandibular de la hemi-mandíbula izquierda suina



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

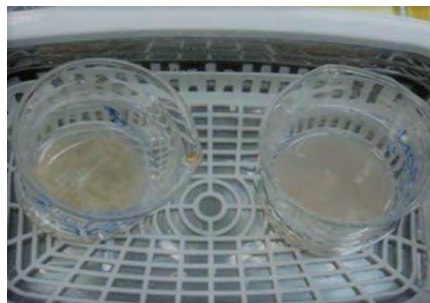
Figura 18. Delimitación de la región del trígono retromolar para remoción y obtención de los bloques de 3 mm x 3mm x 1,2 mm



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Después de la obtención de los bloques de ambos grupos, estos fueron sometidos al lavado en ultrasonido para la remoción de los tejidos orgánicos restantes, (**Figura 19**). Fueron colocados cada bloque en vaso de precipitados estériles con agua destilada y desionizada, siguiéndose de un lavado durante 40 minutos, subdivididos en 5 ciclos de 8 minutos. Finalmente, los bloques fueron almacenados bajo una temperatura de -88 grados Celsius hasta análisis posteriores.

Figura 19. Lavado en ultrasonido de todas las muestras obtenidas de cada grupo



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

6.4.1 Preparo y pulimento de las muestras del cuerpo mandibular suino

Los bloques del cuerpo mandibular suino obtenidos fueron cortados de forma vertical y transversal en la cortadera manual (*Isomet, Buehler, SP, Brasil*) para obtención de bloques menores de 3 mm x 3mm x 1,2 mm. Cada bloque fue fijado a la lámina de acrílico con cera amarilla con los bordes del hueso paralelos a las aristas de la lámina. El corte se inició en el borde más externo del bloque y continuó hasta el borde interno, teniéndose como distancia entre los cortes de 3mm. Enseguida, los bloques obtenidos fueron lavados en el ultrasonido durante 30 minutos, en dos ciclos de 15 minutos.

Posteriormente, los bloques fueron fijados nuevamente a la lámina de acrílico e se realizó el pulido manual en la politriz. Se inició el pulimento con los discos de lija de gramatura (como fue el caso de los otros grupos anteriores), de 800; 1200; 2500 y 4000 durante 15 segundos para el primer disco usado y, 10 segundos para las tres lijas restantes, con una velocidad de 100 rpm. Finalmente, se realizó el ultra pulimento con solución diamantada de 1 μm y disco de fieltro seco, sin irrigación, con una velocidad de 300 rpm durante 1 minuto. Consecuentemente fue realizado el lavado en ultrasonido para remoción de restos de solución diamantada. Las muestras fueron almacenadas en un vaso de precipitados con agua destilada y desionizada, cerrados herméticamente y bajo refrigeración de 4 grados Celsius durante 24 horas.

6.4.2 Preparo y pulimento de las muestras de la región del triángulo retromolar suino

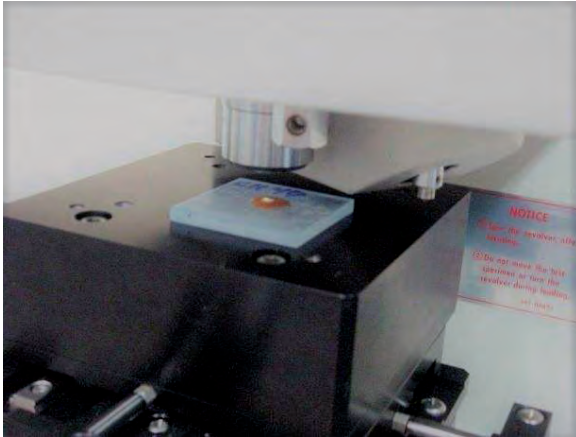
Los bloques de la región del triángulo retromolar obtenidos fueron también sometidos al corte vertical y transversal en la cortadera manual (*Isomet, Buehler, SP, Brasil*) para la obtención de bloques de menores dimensiones de aproximadamente 3 mm x 3mm x 1,2 mm. Se realizó previamente un desgaste y ajuste de los bloques, debido a la anatomía irregular de la región y con la finalidad de facilitar la fijación de estos en la lámina de acrílico. El desgaste fue ejecutado con discos diamantados de aluminio, con irrigación, montados en un motor de baja rotación de uso odontológico. Luego después, fue realizada la fijación de los bloques en la lámina de acrílico con cera caliente. Se realizó el corte vertical y transversal

de los bloques, con una distancia entre corte y corte de 3 mm usándose un disco diamantado de aluminio de grano fino (*Struers*, SP, Brasil) y con irrigación manual con agua destilada desionizada. Posteriormente, se realizó el lavado ultrasónico como descrito anteriormente para los otros grupos. Enseguida, fue realizado el pulido manual en la politriz de ambas superficies, siguiéndose el protocolo también descrito. Luego después, las muestras fueron almacenadas en un vaso de precipitados estéril con agua destilada y desionizada, cerrado herméticamente, durante 24 horas. Finalmente, las muestras fueron fijadas en la lámina de acrílico para análisis de la microdureza de superficie inicial (*Baseline*).

6.5 ANÁLISIS DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE INICIAL (BASELINE)

Las muestras obtenidas de los cuatro grupos de estudio y fijadas a la lámina de acrílico fueron analizadas a través de la microdureza de superficie inicial, técnica usada para determinar de forma indirecta cambios en el contenido mineral, y por consecuencia, variaciones de la dureza ocurrida en la superficie del material analizado. Para este estudio, se empleó el análisis con la finalidad de obtener una evaluación cuantitativa de la homogeneidad en las superficies de las muestras después del pulimento. Así, para el análisis de MDS (*Baseline*), fue utilizado el microdurómetro (*Shimadzu HMV-200*, Japón) provisto de indentador *Knoop* que fue programado para aplicar una carga de 245,2 mN (HK 0,025) durante 10 segundos para el caso de muestras de esmalte dentario, y una carga de 98,4 mN (HK 0,01) durante 15 segundos para las muestras de dentina radicular, trígono retromolar y cuerpo mandibular, (**Figura 20**).

Figura 20. Análisis de microdureza de superficie inicial para las muestras en estudio



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Los valores de referencia para la selección de las muestras y análisis de la microdureza de superficie inicial en cada tejido, fueron determinados según descrito en la literatura, ^{14, 15, 17}.

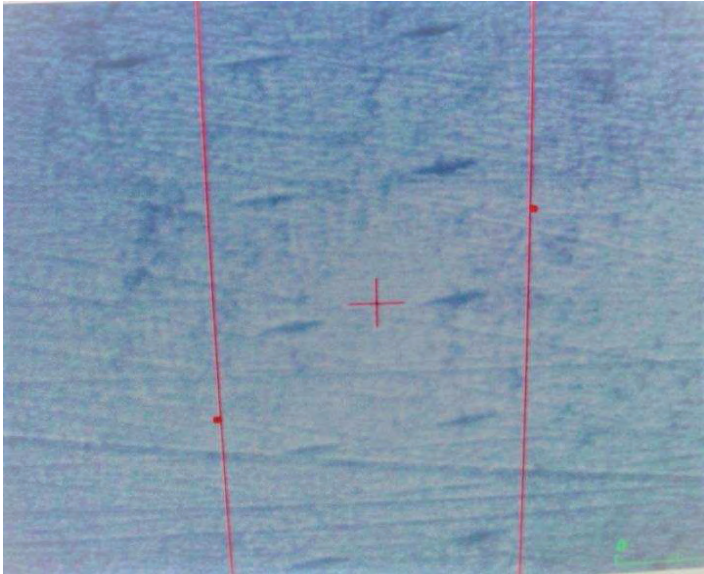
- . Esmalte dentario: 338.35
- . Dentina radicular: 41.4 - 70
- . Cuerpo mandibular: 20.2
- . Região do triângulo retromolar: 15.07

6.5.1 Análisis de Microdureza de Superficie Inicial (*Baseline*) para esmalte dental, dentina radicular, cuerpo mandibular y región del triángulo retromolar

Cada muestra de esmalte dental fue posicionada en el microdurómetro y exenta de movimientos durante todo el análisis. Para cada muestra fueron realizadas 15 indentaciones subdivididas en tres filas de 5 indentaciones, las cuales fueron separadas en distancias de 100 μm a partir de un borde regular, la cual fue

seleccionada y definida para futura referencia. La distancia entre fila y fila fue de 200 μm como se ilustra en la siguiente **Figura 21**:

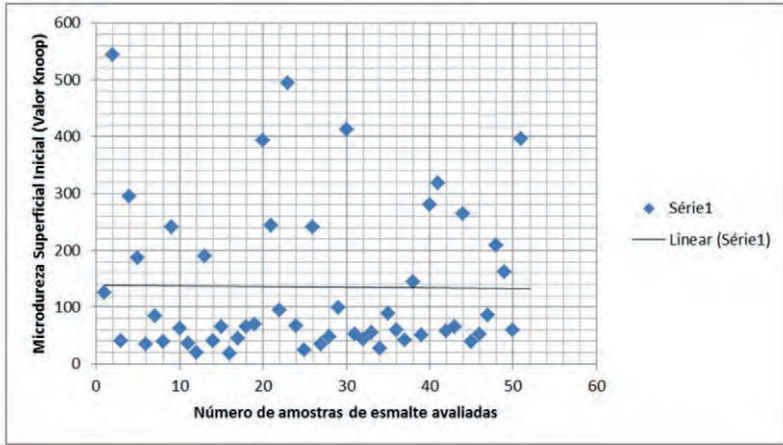
Figura 21. Indentaciones de análisis de microdureza de superficie inicial realizadas con el indentador Knoop (distancia entre hendiduras: 100 μm / entre filas: 200 μm)



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

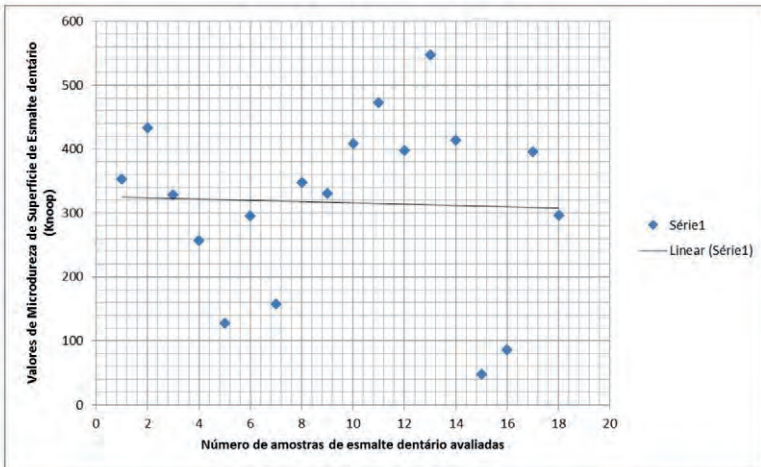
Después de haberse realizado las hendiduras de *Baseline* para obtención de los valores iniciales de la microdureza de superficie de cada grupo, se calculó la media y el desvío estándar de las 15 indentaciones de cada muestra para verificar se la muestra era homogénea como cumplimiento de los criterios de inclusión establecidos. Se realizaron gráficos de dispersión (**Figura 22**, **Figura 23**, **Figura 24**, **Figura 25**, **Figura 26**, **Figura 27** y **Figura 28**) en el *Microsoft Excel* (*Microsoft Office, 2013*) para grupo de estudio, de esta forma se consiguió realizar una selección minuciosa de las muestras para ser irradiadas.

Figura 22. Dispersión - valores iniciales de microdureza de superficie de las muestras primarias de esmalte dental



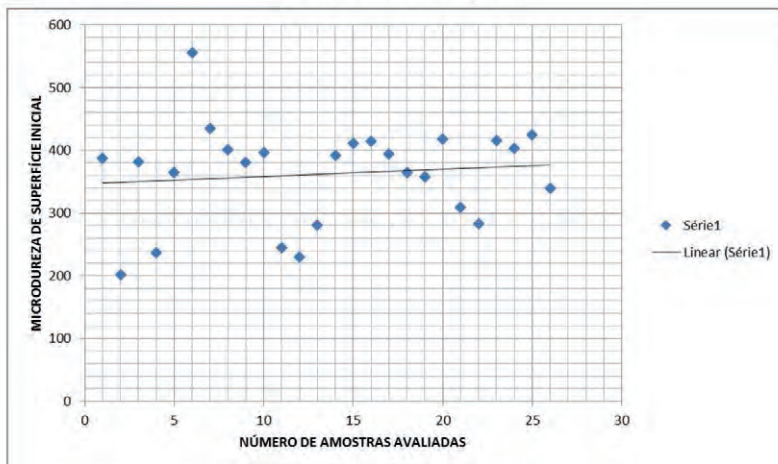
Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel (Microsoft Office 2013)

Figura 23. Dispersión- valores iniciales de microdureza de superficie de las muestras extras de esmalte dentario (segundo grupo)



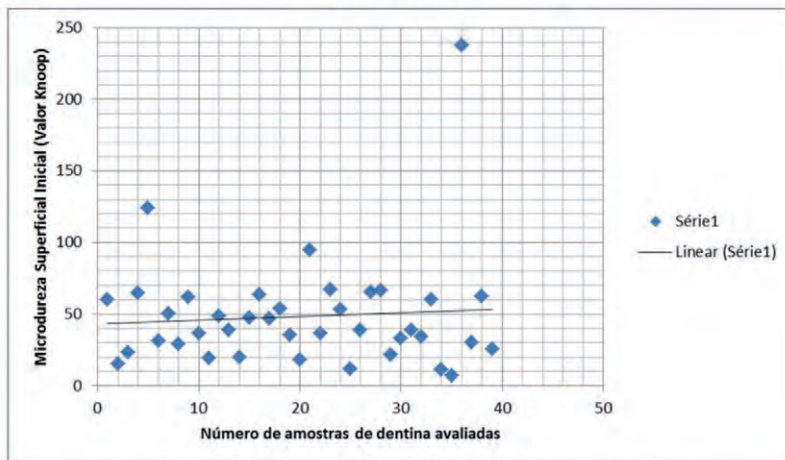
Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel (Microsoft Office 2013)

Figura 24. Dispersión - valores iniciales de microdureza de superficie para las muestras extras de esmalte dentario (tercer grupo)



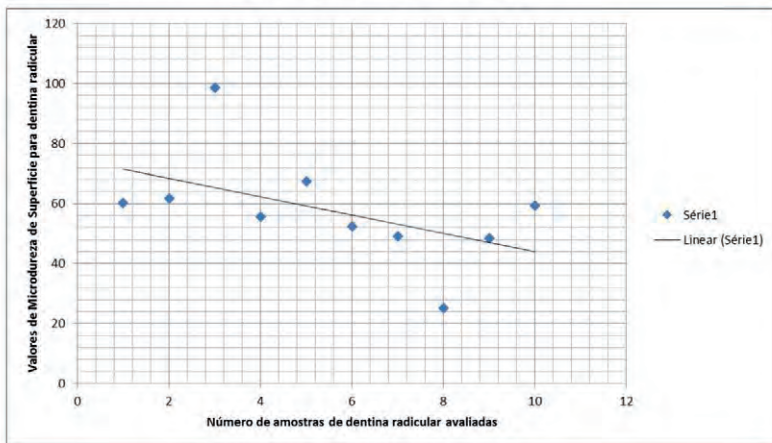
Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel (Microsoft Office, 2013)

Figura 25. Dispersión - valores iniciales de microdureza de superficie de las muestras primarias de dentina radicular



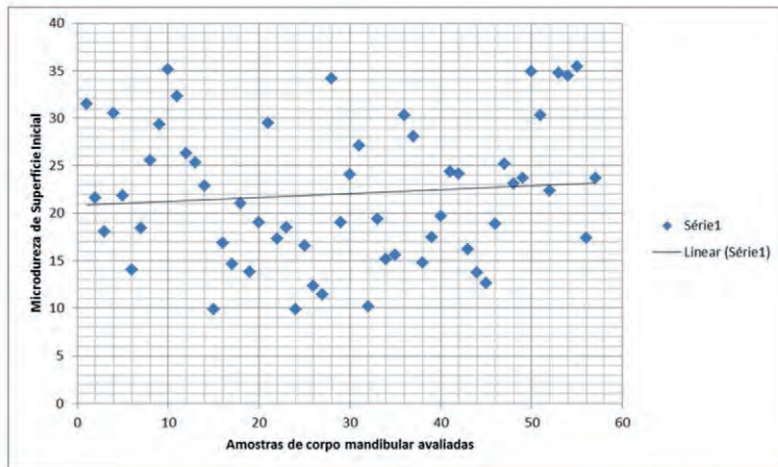
Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel (Microsoft Office, 2013)

Figura 26. Dispersión - valores iniciales de microdureza de superficie de las muestras extras de dentina radicular (segundo grupo)



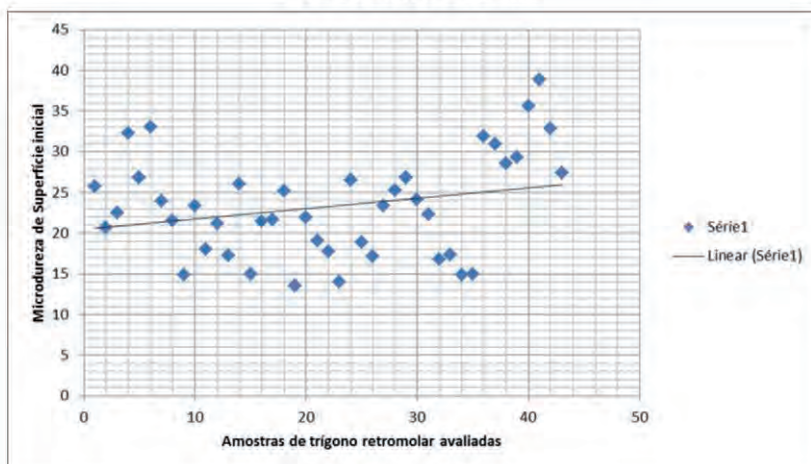
Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel (Microsoft Office, 2013)

Figura 27. Dispersión - valores iniciales de la microdureza de superficie de las muestras primarias del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel (Microsoft office 2013)

Figura 28. Dispersión - valores iniciales de la microdureza de superficie de las muestras primarias de la región del trigono retromolar



Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel (Microsoft office 2013)

6.6 IRRADIACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron sometidas a la irradiación gamma en el irradiador Cobalto-60 (*GammaCell, Co-60*), en el centro de tecnología de las radiaciones (CTR) del Instituto de Pesquisas Energéticas y Nucleares (IPEN/CNEN, SP, Brasil) siguiendo el protocolo de radioterapia convencional utilizado en los pacientes con cáncer de cabeza y cuello. Las muestras fueron colocadas en Placas de Petri, de material resinoso para cultivo, e enseguida, estas fueron sumergidas en campos de algodón humedecidos con solución de Timol diluido en agua destilada (0,641 G/1 litro de agua destilada), con la finalidad de mantener un ambiente húmedo y de evitarse la proliferación de hongos, (Figura 29).

Figura 29. Fuente *GammaCell* Cobalto-60



Fuente: Autor, Centro de Tecnología de las Radiaciones (CTR)

6.6.1 Estudio piloto para la determinación de la tasa de dosis

Para determinar la tasa de dosis a ser empleada en el estudio fue realizado un estudio piloto con las muestras de dentina radicular, formándose dos grupos de cada cinco muestras, las cuales fueron sometidas a dos tasas de dosis diferentes y en modalidad distinta, en el Irradiador Co-60 (*Fuente GammaCell*), cuyas características iniciales del equipo fue el de poseer una tasa de dosis general para el equipo (Octubre 2015) de 956 Gy/H y una dosis de tránsito (Octubre 2015) de 0,81 Gy, (**Figura 30**):

1.- El primer grupo recibió una tasa de dosis de 10 Gy/2,2 segundos como dosis única. Después de la irradiación, se realizó la irrigación del campo con solución de Timol y agua destilada, siendo posteriormente almacenada bajo refrigeración de 4 grados Celsius.

2. El segundo grupo fue sometido a una tasa de dosis fraccionada de 2Gy/4,94 segundos durante cinco días consecutivos hasta completar una dosis total de 10Gy. Después de cada irradiación, las muestras fueron irrigadas con la solución descrita y aplicada en el primer grupo, y almacenadas bajo refrigeración de 4 grados Celsius, (Figura 31).

Ambos grupos fueron analizados al respecto de la microdureza de superficie. Después de la irradiación, se realizó el cálculo de la media (promedio) y del desvío estándar de las 15 hendiduras (indentaciones) realizadas, para posteriormente calcularse el porcentaje de la pérdida de mineral de cada muestra. Según los resultados obtenidos a partir de los gráficos de dispersión, de la pérdida de dureza y de los valores de microdureza antes y después de la irradiación de cada muestra del estudio piloto; además, se realizó una *plotagem* de los resultados, obteniéndose un gráfico el cual inició un agrande variación de los resultados iniciales con respecto a los finales de la MDS con la tasa de dosis de 10Gy, como dosis única, de acuerdo al desvío estándar obtenido, por lo cual se decidió usar la tasa de dosis fraccionada de 2Gy/4,94 segundos, para todos los grupos en estudio, como se muestra en la Figura 32 .

Figura 30. Fuente *GammaCell* con la dosis programada para el estudio piloto (10 Gy dosis única/ 2 Gy fraccionada)



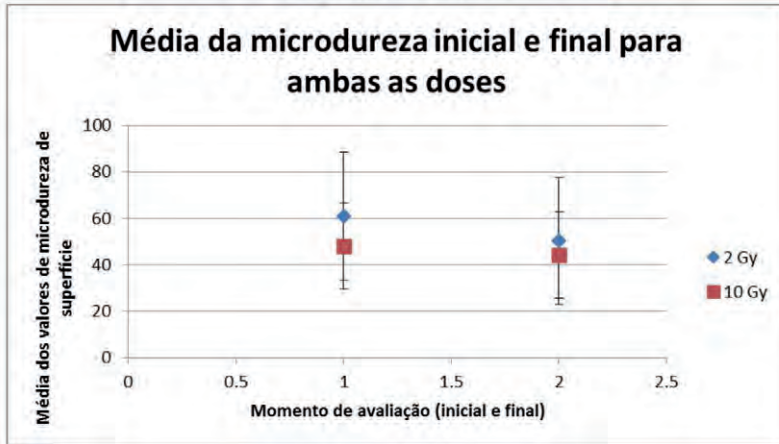
Fuente: Autor, Centro de Tecnología de las Radiaciones (CTR)

Figura 31. Muestras del estudio acondicionadas en las placas de Petri



Fuente: Autor, Centro de Tecnología de las Radiaciones (CTR)

Figura 32. Media de la microdureza de superficie para la determinación de la tasa de dosis en la irradiación de las muestras



Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel (Microsoft office 2013)

6.6.2 Irradiación de las muestras de esmalte dentario

Las muestras de esmalte dental fueron colocadas en placas de Petri distribuidas en campos de algodón humedecidos con solución de Timol y agua destilada como

fue descrito anteriormente en el estudio piloto. Cada una fue distribuida en las placas, formando mini-grupos de 5 muestras por cada placa.

Enseguida, se realizó la irradiación de las muestras en el irradiador con una tasa de dosis general del equipamiento para el mes de Marzo del año 2016 de 903 Gy/h, una dosis de tránsito de 0,76 Gy y, finalmente, una tasa de dosis específica de 2Gy/4,94 segundos. La irradiación fue realizada dos veces por día (recibiendo cada muestra 4 Gy por día) con un intervalo de 8 horas entre cada irradiación, durante cinco días hasta completar una dosis semanal de 20 Gy.

Después de la segunda irradiación del día, las muestras fueron irrigadas con la solución de Timol y agua destilada, para posteriormente ser almacenadas bajo refrigeración de 4 grados Celsius.

6.6.3 Irradiación de las muestras de dentina radicular

Las muestras de dentina radicular fueron sumergidas en campos de algodón humidificados con solución de Timol y agua destilada y colocadas en las placas de Petri. Estas fueron sometidas a la irradiación gamma en el irradiador de cobalto-60 con las condiciones anteriormente descritas con respecto al equipo. Las muestras recibieron una tasa de dosis fraccionada de 2 Gy/4,94 segundos, dos veces por día, completándose semanalmente una dosis de 20 Gy. La dosis total completada fue de 72 Gy al finalizarse todo el tratamiento radioterápico de las muestras en estudio. Fue realizada la rehidratación de las muestras después del segundo tiempo de irradiación en el día.

6.6.4 Irradiación de las muestras de la región del triángulo retromolar

En el caso de las muestras del triángulo retromolar fue realizado el mismo procedimiento descrito para los grupos anteriores. Estas fueron acondicionadas en las placas de Petri humedecidas con solución e Timol y agua destilada para el mantenimiento del ambiente húmedo y la inhibición del crecimiento de hongos. Las muestras recibieron una dosis fraccionada de 2 GY/4,94 s dos veces por día, hasta completar una dosis semanal de 20 Gy, y una dosis total de 72 Gy. Después del

segundo tiempo de irradiación, las placas de Petri conteniendo las muestras, fueron rehidratadas y almacenadas bajo refrigeración de 4 grados Celsius.

6.6.5 Irradiación de las muestras de cuerpo mandibular

El grupo de muestras del cuerpo mandibular suino fue colocado en placas de Petri distribuidas en subgrupos de 5 muestras por cada placa, las cuales fueron sumergidas en campos de algodón humedecidos por motivo de mantener el ambiente húmedo e inhibir el crecimiento fúngico. Las muestras fueron sometidas a la irradiación gamma proveniente de la fuente de Cobalto-60, con una tasa de dosis fraccionada de 2 Gy/4,94 s dos veces por día, hasta completar la dosis semanal de 20 Gy, y una dosis final de 72 Gy. El procedimiento de rehidratación fue seguido conforme descrito en los grupos anteriores.

6.6 ANÁLISIS PORCENTUAL DE LA PÉRDIDA DE DUREZA DE SUPERFICIE

Luego después que las muestras fueron irradiadas según el protocolo utilizado, se realizó la evaluación final de la microdureza de superficie de cada grupo. Cada muestra fue posicionada en el microdurómetro (*Shimadzu HMV 200, Shimadzu, Japón*) para localizarse el borde inicial de referencia establecido en el análisis inicial, enseguida, se calculó la distancia entre la fila inicial y final, la cual fue de 200 μm , con la finalidad de evaluarse las variaciones de dureza en la región envuelta y analizada inicialmente. Fueron realizadas cinco indentaciones por fila, separadas una de la otra por 100 μm , completándose finalmente 15 indentaciones finales para cada muestra de los grupos en estudio.

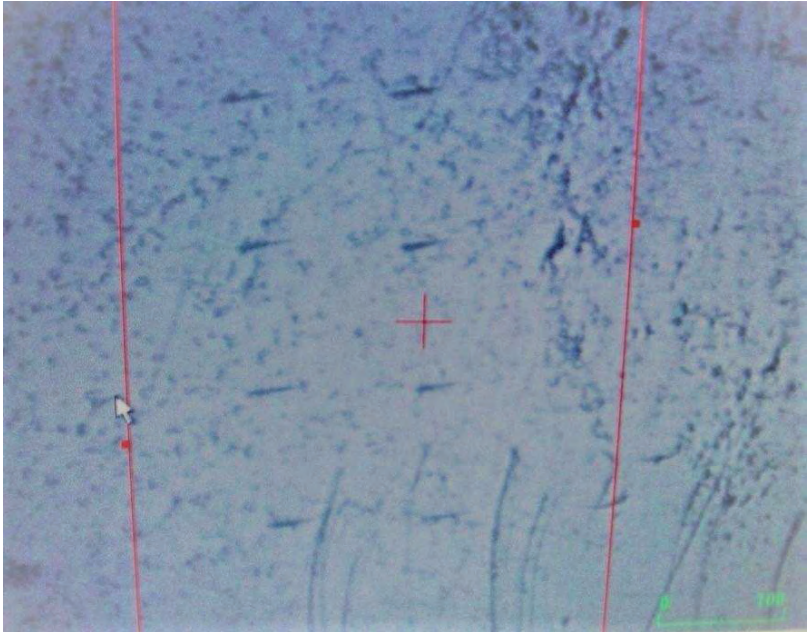
Los datos numéricos obtenidos fueron registrados en una planilla confeccionada inicialmente (presentada en los anexos del libro). Luego, se realizó el cálculo del porcentaje de pérdida de la microdureza de superficie de testes biológicos con la finalidad de comprobar la integridad de las muestras, a través del cálculo matemático representado por la ecuación:

$$\% \text{Variación de dureza de superficie} = \text{MDS Inicial} - \text{MDS post tratamiento} \times 100 / \text{MDS Inicial}$$

Esta determinación del porcentaje de pérdida de microdureza de superficie después de la muestra ser irradiada es un control intra - muestra, comprobando la

seguridad del método usado en relación al mantenimiento de la homogeneidad presentada inicialmente.

Figura 33. Análisis de la microdureza final de las muestras para el cálculo del porcentaje de la pérdida de dureza



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA, IPEN/CNEN, SP, Brasil)

6.7 ANÁLISIS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Cuatro muestras por cada grupo fueron seleccionadas para el análisis morfológico a través de la microscopía electrónica de barrido. En un primero momento, las muestras fueron tratadas y preparadas (acondicionamiento inicial) físicamente ejecución del análisis. Se escogieron diferentes concentraciones de etanol con el objetivo de realizar la deshidratación de cada muestra, incluyéndose en una escala creciente de concentración de alcohol puro: 10%, 30%, 50%, 70%, 90% 96 % y 100% por 15 minutos en cada una (**Figura 34**). Luego después, las muestras fueron colocadas en un desecador de sílice durante 24 horas (tiempo

mínimo) para posterior análisis directo en el microscopio electrónico de barrido (Figura 35)

Figura 34. Muestras en soluciones crecientes de alcohol puro para deshidratación progresiva



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 35. Muestras posicionadas en el disecador de sílice después de la deshidratación



Fuente: Autor, Centro de Láseres y Aplicaciones (CLA-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Las muestras fueron examinadas en el microscopio electrónico de barrido TM 3000 *Tabletop Microscope* (Hitachi, Japón) del Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM) en el IPEN/CNEN, SP, Brasil, con una tensión de 15 Kv para la obtención de una mayor resolución de la imagen y de esta forma conseguir una amplia especificidad y detalles de la superficie a ser analizada. Para facilitarse la fijación de la muestra en el porta-muestras del microscopio, se empleó una cinta adhesiva dupla de carbono, conductora. Los grupos analizados fueron constituidos de la siguiente forma:

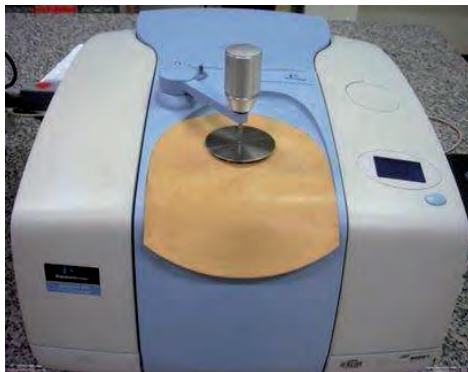
1. Grupo de esmalte dentario control (dos muestras antes de la irradiación gamma)
2. Grupo de esmalte dentario experimental (dos muestras después de la irradiación gamma);
3. Grupo de dentina radicular control (dos muestras antes de la irradiación gamma);
4. Grupo de dentina radicular experimental (dos muestras después de la irradiación gamma);
5. Grupo de cuerpo mandibular control (dos muestras antes de la irradiación gamma);
6. Grupo de cuerpo mandibular experimental (dos muestras después de la irradiación gamma)
7. Grupo de la región del triángulo retromolar control(dos muestras antes de la irradiación gamma);
8. Grupo de la región del triángulo retromolar experimental (dos muestras después de la irradiación gamma).

6.8. ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPÍA ATR-FTIR

Las muestras irradiadas y no irradiadas fueron analizadas por la Espectroscopia en el infrarrojo por transformada de *Fourier*, en el espectrómetro infrarrojo FTIR (*Perkin - Elmer*, 100) (**Figura 36**) del centro de tecnología de las radiaciones (CTR) del IPEN/CNEN, SP, Brasil, cuyo espectros fueron obtenidos

por reflexión total atenuada (ATR) con una tasa de frecuencia de 4000 cm^{-1} a 650 cm^{-1} , y una precisión de adquisición de 4 cm^{-1} . Se optó por una mayor cantidad de barridos siguiendo los últimos reportes de la literatura, ^{48, 51}, para el caso de obtención de los espectros de tejidos duros de la cavidad bucal, completándose un total de 80 barridos con substracción del *background* espectral (BG). El cristal que componía el equipo para el análisis fue el seleniuro de zinc (ZnSe), para obtenerse un análisis bioquímico y cualitativo del contenido orgánico e inorgánico en las muestras. Estas fueron retiradas de las láminas de acrílico y fueron posicionadas sobre el cristal de ZnSe para la obtención de los espectros generados por la transformada de *Fourier*. Después de haberse centralizado y posicionado de forma correcta las muestras en el cristal, se realizó el ajuste contra el cristal usándose una determinada fuerza de torque de 130 N, lo que permitió un análisis exacto de las muestras, como se ilustra en la **Figura 37**.

Figura 36. Espectrómetro para análisis de las muestras por ATR-FTIR



Fuente: Autor, Centro de Tecnología de las Radiaciones (CTR-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 37. Análisis de las muestras por la técnica de reflexión total atenuada aplicándose una fuerza de torque de 130 N



Fuente: Autor, Centro de Tecnología de las Radiaciones (CTR-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Fueron obtenidos ocho espectros (**Figura 38** y **Figura 39**) para el caso de las muestras iniciales, es decir, aquellas que no fueron sometidas a la irradiación gamma, siendo subdivididas:

Figura 38. Obtención de los espectros por transformada de *Fourier*



Fuente: Autor, Centro de Tecnología de las Radiaciones (CTR-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 39. Obtención del espectro *background*, el cual será substraído en todos los espectros obtenidos por transformada de *Fourier*



Fuente: Autor, Centro de Tecnología de las Radiaciones (CTR-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

- Esmalte dentario: dos espectros (E40REF, E69REF)
- Dentina radicular: dos espectros (D81REF, D52REF)
- Cuerpo mandibular: dos espectros (CM58REF, CM50REF)
- Región del trígono retromolar: dos espectros (TRM55REF, TRM56REF)

CAPÍTULO VII
ANÁLISIS ESTADÍSTICO EXPLORATORIO

Los resultados obtenidos de la microdureza de superficie fueron analizados estadísticamente con una nivel de confianza del 95%, empleándose el programa *Statistical Package for Social Sciences*, **SPSS** versión 18 para *Windows*. En primero lugar, se realizó un análisis exploratorio con las medidas iniciales y finales de la microdureza de superficie de cada grupo de estudio, con la finalidad de obtenerse resultados preliminares y una visión general al realizarse la comparación de ambas medidas.

Para cada grupo de estudio fue calculada la media (promedio) de los 15 valores Knoop obtenidos después de cada indentación en las muestras, antes y después de la irradiación gamma. Además, el desvío estándar de cada grupo fue obtenido para determinar el grado de variabilidad de los resultados en ambos momentos. Las tablas y figuras, a continuación, muestran los datos y gráficos exploratorios de cada grupo.

7.1 ESMALTE DENTARIO (GRUPO 1)

Para el análisis de microdureza de superficie fueron analizadas 50 muestras, cada una de ellas con 15 indentaciones en la etapa inicial y final.

Presentase en la **Tabla 1**, una disminución de la media de los valores de microdureza de superficie después de la irradiación gamma. Además, los resultados iniciales mostraron una mayor variabilidad cuando fueron comparados con los valores de microdureza obtenidos después de la irradiación gamma.

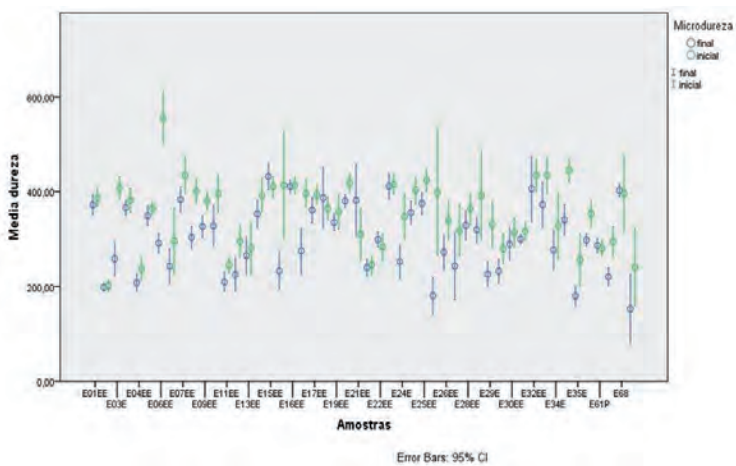
El análisis exploratorio para las medidas iniciales y finales es presentado en la **Figura 40**, en la cual es posible observar de forma general, una disminución de los valores de microdureza en la etapa final (cuando se comparan con los valores iniciales). Observase también una disminución en la variabilidad de las medidas en ambos momentos.

Tabla 1. Medidas de microdureza de superficie del esmalte dentario

	Microdureza inicial	Microdureza final
Media	352	302
Desvio estándar	104	93
Valor mínimo	53	16
Valor máximo	983	848

Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel, Microsoft Office 2013

Figura 40. Microdureza de superficie inicial versus microdureza de superficie final del esmalte dentario



Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

En la **Figura 40**, se presenta el gráfico de *plotagem* obtenido a partir de los resultados iniciales y finales de los valores de microdureza de esmalte dentario antes y después de la irradiación gamma. El gráfico muestra el comportamiento de

las mediciones de cada muestra en la etapa inicial y final. La longitud de las barras (*Error Bars*) se asocia al intervalo de confianza de 95% obtenido a través de las medidas de cada muestra, consecuentemente, una mayor longitud de la barra indica una mayor variabilidad en las medidas para cada muestra. La circunferencia indica la media (promedio) de las medidas de las muestras. Se puede observar que en las dos primeras muestras (dirigido hacia lado izquierdo del gráfico) se obtuvieron mediciones iniciales y finales de microdureza muy cercanas; sin embargo, en el caso de la tercera muestra se observa una diferencia marcada entre las medidas iniciales y finales, lo que sugiere una clara disminución de la microdureza de superficie después de las muestras haber sido irradiadas.

7.2 DENTINA RADICULAR (GRUPO 02)

El análisis de microdureza de superficie para la dentina fue evaluada en 49 muestras, cada una ellas con 15 indentaciones distribuidas en la superficie, en la etapa inicial y final, las cuales fueron agrupadas en filas de 5 indentaciones.

En la **Tabla 2**, se presenta una disminución de la media (promedio) de los valores de microdureza después de la irradiación gamma. Además, se observó que los resultados iniciales mostraron el mismo grado de variabilidad cuando fueron comparados con los valores finales de microdureza obtenidos después de la radioterapia.

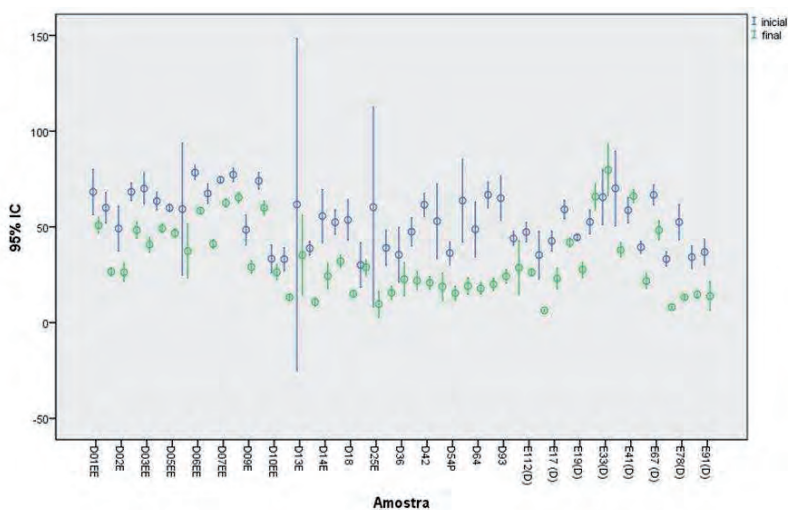
En la **Figura 41**, se presenta el comportamiento de las mediciones de microdureza. Se observa una acentuada disminución de las mediciones finales cuándo comparadas con las mediciones iniciales. Además. Aunque el desvío estándar sea el mismo para la etapa inicial y final, es posible encontrar una disminución de la variabilidad en la etapa final (las líneas en la etapa final están más sobrepuestas en relación a la etapa inicial).

Tabla 2. Medidas de microdureza de superficie de la dentina radicular

	Inicial	Final
Media	54	33
Desvio estándar	20	20
Valor mínimo	7	6
Valor máximo	156	156

Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel, Microsoft Office 2013

Figura 41. Microdureza de superficie inicial versus final en las muestras de dentina radicular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

En la **Figura 41**, se presenta el gráfico de *plotagem* obtenido a partir de los resultados iniciales y finales de los valores de microdureza de las muestras de

dentina radicular antes y después de la irradiación gamma. Este gráfico muestra el comportamiento de las mediciones de cada muestra en la etapa inicial y final. La longitud de las barras (*Error Bars*) se asocia al intervalo de confianza de 95% obtenido a través de las medidas de cada muestra, consecuentemente, una mayor longitud de la barra indica una mayor variabilidad en las mediciones para cada muestra. La circunferencia indica la media (promedio) de las medidas de estas. Se puede observar que en las primeras muestras (ubicadas al lado izquierdo del gráfico) se obtuvo medidas iniciales de microdureza muy cercanas; sin embargo, en el caso de la segunda muestra se presenta una acentuada diferencia entre las medidas iniciales y finales, sugiriendo una disminución considerable de la microdureza de superficie después de la irradiación gamma.

7.3 CUERPO MANDIBULAR (GRUPO 03)

Con respecto al hueso mandibular, 51 muestras fueron analizadas para la evaluación de la microdureza de superficie correspondiente al cuerpo mandibular. Fueron realizadas 15 indentaciones en la etapa inicial y final.

En la **Tabla 3**, se presenta una disminución del valor de la media (promedio) inicial cuando se comparó con la media (promedio) final. Por otro lado, los resultados iniciales de microdureza de superficie presentaron una mayor variabilidad cuando comparados con los valores finales.

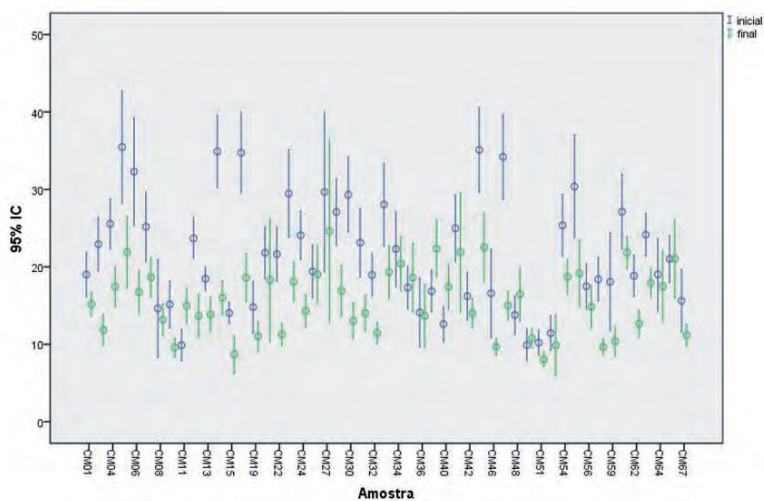
Un análisis exploratorio, para las medidas iniciales y finales, es presentado en la **Figura 42**. En este gráfico es posible observarse, en líneas generales, una cierta disminución de los valores de microdureza en la etapa final. Se observa también una clara disminución de la variabilidad en las medidas obtenidas (desvío estándar inicial: 10, desvío estándar final: 7).

Tabla 3. Medidas de la microdureza de superficie del cuerpo mandibular

	Inicial	Final
Media	22	16
Desvio estándar	10	7
Valor mínimo	6	6
Valor máximo	80	85

Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel, Microsoft Office 2013

Figura 42. Microdureza de superficie inicial versus microdureza de superficie final de las muestras del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

En la **Figura 42**, se establece una comparación de los resultados iniciales y finales de la microdureza de superficie para las muestras del cuerpo mandibular. Se puede observar una mayor variabilidad de los valores primarios de microdureza cuando fueron comparados con los valores obtenidos después del tratamiento radioterápico de las muestras. Finalmente, se observó una evidente disminución de los valores iniciales de microdureza de superficie cuando se comparó con los valores finales.

7.4 REGIÓN DEL TRÍGONO RETROMOLAR (GRUPO 04)

Con respecto a la región del triángulo retromolar, 49 muestras fueron evaluadas para el análisis de microdureza de superficie correspondiente al cuerpo mandibular. Se realizaron 15 indentaciones en total, para análisis en una etapa inicial y final.

Los valores obtenidos mostrados en la **Tabla 4** exploratoriamente, determinaron una disminución de la media (promedio) de los valores de microdureza de superficie después de la irradiación gamma. Por otro lado, se manifiesta una mayor variabilidad en los resultados iniciales al compararse con los valores finales de las muestras analizadas.

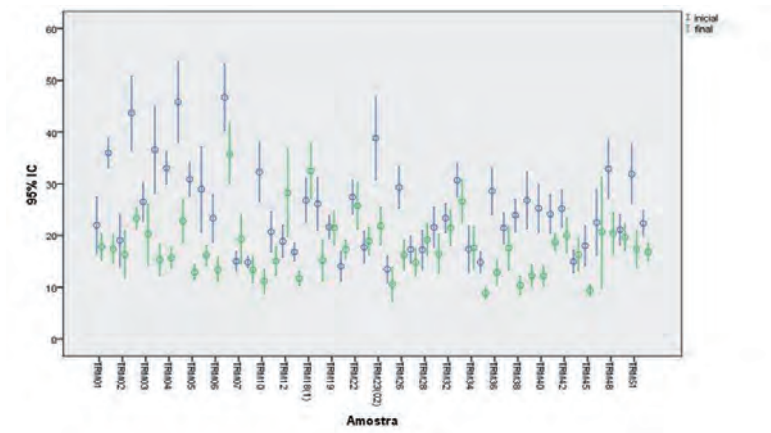
Un análisis exploratorio de las medidas iniciales y finales fueron presentados en la **Figura 43**. En este gráfico es posible observarse, de forma general, una disminución de los valores de microdureza en la etapa final. Se observa también cierta disminución de la variabilidad de las medidas en la etapa final (desvío estándar = 11, desvío estándar final = 9)

Tabla 4. Medidas de la microdureza de superficie inicial y final de las muestras de la región del trigono retromolar

	Inicial	Final
Media	25	18
Desvio estándar	11	9
Valor mínimo	6	6
Valor máximo	83	76

Fuente: Elaborado por el autor en el programa Microsoft Excel, Microsoft Office 2013

Figura 43. Microdureza de superficie inicial versus microdureza de superficie final de las muestras de la región del trigono retromolar



Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

En la **Figura 43** , se presenta y establece una comparación de los resultados iniciales y finales de la microdureza de superficie para las muestras de la región del triángulo retromolar, en el cual se observa una mayor variación en los resultados provenientes del análisis inicial de microdureza cuando comparados con los valores obtenidos después del tratamiento radioterápico. Finalmente, se observa una clara disminución de los valores iniciales de microdureza de superficie al compararse con los valores finales.

CAPÍTULO VIII

RESULTADOS DEL ESTUDIO. ANÁLISIS DE MICRODUREZA. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO. FTIR

8.1 ANÁLISIS DE LA MICRODUREZA DE SUPERFICIE (MDS)

Luego después de los resultados preliminares obtenidos y del análisis estadístico exploratorio realizado, los cuales proporcionaron y relataron resultados inmediatos sobre el análisis de microdureza de superficie, se aplicó la prueba estadística paramétrica de *t de student* para promedios relacionados, con la finalidad de testar la hipótesis de nulidad planteada, conforme descrita a continuación:

H₀: No existe diferencia significativa entre los valores iniciales de microdureza de superficie cuándo comparados con los valores finales, en las muestras de los tejidos duros de la cavidad bucal sometidos a la irradiación gamma.

La **Tabla 5** presenta la media (promedio) y error estándar de los valores iniciales y finales de la microdureza de superficie en el esmalte dental.

Tabla 5. Promedio y error estándar de la microdureza de superficie en el esmalte dentario

		Media (Promedio)	Error estándar del promedio
Par 1	Inicial	354,50	3,83
	Final	301,67	3,44

Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

Estadística descriptiva:

1. El número de indentaciones evaluadas fue de 732 en cada muestra de esmalte antes y después de la irradiación gamma, obteniéndose una disminución de los valores de microdureza de superficie de aproximadamente 53 puntos.
2. El error estándar del promedio de los valores iniciales de la microdureza de superficie fue de 3,83 y para el caso de los valores finales fue de 3,44 representando en ambos casos valores pequeños, que ofrecen un mayor margen de seguridad al respecto de los resultados obtenidos.

La **Tabla 6** presenta las diferencias relacionadas entre las medias de los valores de microdureza de superficie inicial y final, en las muestras de esmalte dentario, para el test de *t de student*:

Tabla 6. Test *t de student* de la microdureza de superficie del esmalte dentario

		Prueba de las muestras relacionadas				t	gl	p- valor (<0,05%) (Bilateral)
		Diferencias relacionadas						
Par	Inicial - Final	Media	Error estándar de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
1		52,823	3,916	45,134	60,512	13,488	731	0,00

Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

El cuadro resumen presentado en la **Tabla 6** muestra que la hipótesis nula formulada inicialmente fue rechazada, debido a que se obtuvo un valor de $p < 0,05\%$ ($p=0,00$); por consiguiente, este resultado expresa que existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores iniciales y finales de la microdureza de superficie en las muestras de esmalte dentario.

La **Tabla 7** presenta la media (promedio) y error estándar de los valores de microdureza de superficie inicial y final, en las muestras de dentina radicular

Tabla 7. Media (promedio) y error estándar de la microdureza de superficie de la dentina radicular

		Media (Promedio)	Error estándar de la media
Par 1	Inicial	54,30	0,79
	Final	33,32	0,78

Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

Estadística descriptiva:

1. Después del análisis de 642 indentaciones realizadas en las muestras de dentina radicular, se observó una disminución de aproximadamente 20 puntos de diferencia entre la media de los valores iniciales y la media de los valores finales de microdureza de superficie.
2. El error estándar de la media de los valores iniciales de microdureza de superficie fue de 0,79, y para el caso de la media de los valores finales fue de 0,78, representando en ambos valores reducidos de error, lo que indica una mayor confiabilidad de los resultados, debido al margen de seguridad de los datos obtenidos es alto.

En la **Tabla 8** se presenta el test *t de student* para análisis de las medias (promedios) de la microdureza de superficie inicial y final en las muestras relacionadas de dentina radicular.

Tabla 8. Test *t de student* de la microdureza de superficie en las muestras de dentina radicular

Prova das amostras relacionadas								
Diferenças relacionadas						t	gl	p-valor (<0,05%) (bilateral)
		Média	Erro padrão da média	95% Intervalo de confiança para a diferença				
Par	Inicial - Final			Inferior	Superior			
1		20,98	0,79	19,42	22,54	26,43	641	0,00

Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

El cuadro resumen presentado en la **Tabla 8**, representa el rechazo nuevamente de la hipótesis nula formulada al inicio del análisis de *t de student* para los valores de microdureza obtenidos, ya que se obtuvo un valor de $p < 0,05\%$ ($p=0,00\%$); en consecuencia, este valor de p expresa que existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores iniciales y finales de microdureza de superficie en las muestras de dentina radicular.

La **Tabla 9** muestra la media y el error estándar de la media (promedio), de los valores de microdureza de superficie inicial y final de las muestras del cuerpo mandibular.

Tabla 9. Media y error estándar de la microdureza de superficie del cuerpo mandibular

		Média	Erro padrão da média
Par 1	Inicial	21,66	0,38
	Final	15,61	0,26

Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

Estadística descriptiva:

1. Luego después de la evaluación de 752 indentaciones realizadas en las muestras del cuerpo mandibular, se observó una disminución de aproximadamente 6 puntos de la media inicial de los valores iniciales de microdureza de superficie con respecto a la media final.
2. El error estándar de la media de los valores iniciales de microdureza de superficie fue de 0,38 y para el caso de la media de los valores finales fue de 0,26; consecuentemente, esto representa en ambos casos una mayor confiabilidad de los resultados obtenidos debido a que el margen de error es reducido.

La **Tabla 10** muestra el test de *t de student* para análisis de las medias relacionadas de los valores iniciales y finales de microdureza de superficie en las muestras de cuerpo mandibular.

Tabla 10. Test *t de student* de la microdureza de superficie del cuerpo mandibular

Prueba de las muestras relacionadas								
Par	Inicial - Final	Diferencias relacionadas				t	gl	p- valor (<0,05%) (bilateral)
		Média	Error estándar de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
1		6,05	0,39	5,28	6,83	15,32	751	0,00

Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

El cuadro resumen presentado en la **Tabla 10**, según los valores obtenidos, confirma el rechazo de la hipótesis nula, debido a un valor de p superior al 0,05 ($p=0,00$), lo cual representa que existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores iniciales y finales de la microdureza de superficie en las muestras de cuerpo mandibular, que además de presentar una diferencia positiva, el valor del error estándar es pequeño, lo que ofrece un mayor margen de seguridad de los resultados obtenidos.

La **Tabla 11** muestra la media (promedio) y el error estándar de la media de los valores de microdureza de superficie inicial y final en las muestras de la región del trigono retromolar.

Tabla 11. Media (promedio) y error estándar de la microdureza de superficie de las muestras de la región del trigono retromolar

		Média	Erro padrão da média
Par 1	Inicial	25,25	0,42
	Final	18,00	0,32

Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

Estadística descriptiva:

1. Después del análisis de 726 indentaciones realizadas en las muestras provenientes de la región del triángulo retromolar se obtuvo una disminución del valor de la media inicial en aproximadamente 07 puntos con respecto a la media final de los valores de microdureza de superficie en ambos momentos.
2. El error estándar de la media de los valores iniciales de la microdureza de superficie fue de 0,42, y para el caso de la media de los valores finales fue de 0,32, representando en ambos casos valores pequeños de error, lo que ofrece un mayor margen de seguridad de los datos obtenidos.

En la **Tabla 12** se muestra el test *t de student* para el análisis de las medias relacionadas obtenidas a partir de los valores de microdureza de superficie inicial y final provenientes de las muestras de la región del triángulo retromolar.

Tabla 12. Test *t de student* de la microdureza de superficie de las muestras de la región del triángulo retromolar

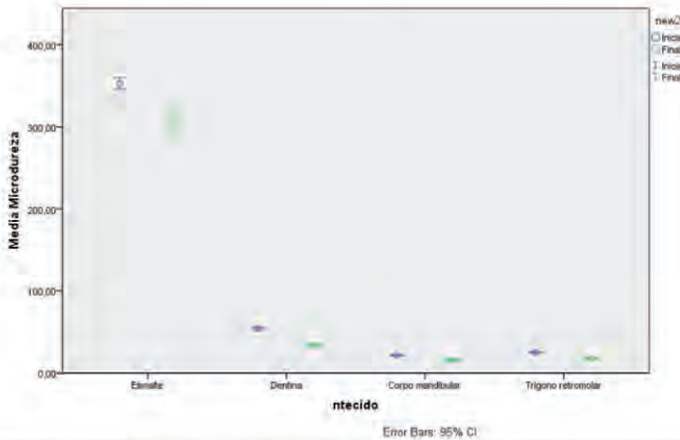
Prueba de las muestras relacionadas								
Par	Inicial - Final	Diferencias relacionadas				t	gl	p-valor (<0,05%) (bilateral)
		Media	Error estándar de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
1		7,25	0,47	6,33	8,17	15,41	725	0,00

Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

El cuadro resumen presentado en la **Tabla 12** muestra que la hipótesis nula fue rechazada, ya que se obtuvo un valor de p de 0,00, lo que representa la existencia de diferencia estadísticamente significativa entre los valores iniciales y finales de microdureza de superficie de las muestras provenientes de la región del triángulo retromolar.

La **Figura 44**, presenta el análisis estadístico de *t de student* con la finalidad de establecer comparaciones entre las medias (promedios) y el error estándar de esas medias, entre los valores de microdureza de superficie inicial y final para cada grupo de estudio evaluado. Según el gráfico, el grupo de muestras provenientes del esmalte dentario presentó una mayor variación entre los valores iniciales y finales de la microdureza de superficie, cuando se comparó con los otros grupos, los cuales obtuvieron valores de la diferencia entre sus medias (promedios) y error estándar próximos. Los datos fueron obtenidos con un nivel o intervalo de confianza de 95%.

Figura 44. Test de *t de student* para análisis de las medias (promedios) y error estándar de los valores de microdureza de superficie inicial y final de las muestras en estudio



Fuente: Elaborado por el autor a partir de los datos obtenidos de las análisis de microdureza sometidos al test *t de student* para medias (promedios) relacionadas en el programa SPSS. 18 para Windows

Para el análisis de la diferencia de los valores de microdureza de superficie entre los grupos (esmalte dentario, dentina radicular, cuerpo mandibular y región del trigono retromolar) fue aplicado el test estadístico de ANOVA, el cual objetiva

determinar si existe diferencias estadísticamente significativa del efecto ejercido por la radiación gamma entre los grupos sometidos a dicha radiación evaluándose las diferencias de microdureza de superficie inicial y final intergrupales. Las tablas, a continuación presentan los resultados obtenidos a través de este análisis:

Tabla 13. Análisis de la diferencia de microdureza de superficie intergrupales

	N	Media	Error estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
Esmalte	728	51,2754	3,45286	44,4966	58,0542	-277,00	438,00
Dentina	642	20,9780	0,79387	19,4191	22,5369	-45,00	115,20
Cuerpo mandibular	752	6,0512	0,39491	5,2760	6,8265	-71,40	61,80
Trigono retromolar	726	7,2492	0,47051	6,3254	8,1729	-42,60	64,10
Total	2848	21,2815	0,97742	19,3650	23,1981	-277,00	438,00

Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

A partir de los resultados presentados en la **Tabla 13** se observó, en primer lugar, que todos los grupos de estudio evaluados presentaron una diferencia positiva entre los valores de microdureza de superficie, identificándose una mayor diferencia entre aquellos valores (inicial y final) en las muestras de esmalte dentario cuando se comparó con los otros grupos. Por otro lado, la diferencia de valores del grupo del cuerpo mandibular presentó la menor diferencia intergrupales de los valores de microdureza aquí obtenidos.

Tabla 14. Prueba de homogeneidad de los grupos analizados a través del test de ANOVA

ANOVA					
Análisis de la diferencia de los valores de microdureza inicial e final					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor (<0,05%)
Intergrupar	972382,01	3	324127,33	136,08	0,00
Intragrupo	6773874,20	2844	2381,812		
Total	7746256,22	2847			

Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18n para Windows

A partir de los resultados obtenidos de la **Tabla 14** , se comprueba que existe diferencia estadísticamente significativa intergrupar, de la diferencia de las medias (promedios) de los valores iniciales y finales de la microdureza de superficie. Consecuentemente, el grado de compromiso de los tejidos duros sometidos a la irradiación gamma fue diferente para cada uno de los grupos, es decir, la radioterapia ejerció su efecto de forma diferente, causando mayor perjuicio en algunos que en otros.

Tabla 15. Test estadístico de Tukey para análisis de la diferencia de las medias de la microdureza de superficie de los grupos en estudio

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente: Diferencia de las medias de los valores de microdureza inicial e final							
(I) ntejido	(J) ntejido	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar r	p-valor (<0,05 %)	Intervalo de confianza al 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
HSD de Tukey	Esmalte	Dentina	30,30 [*]	2,64	0,00	23,51	37,09
		Cuerpo mandibular	45,22 [*]	2,54	0,00	38,70	51,75
		Trigono retromolar	44,03 [*]	2,56	0,00	37,45	50,61
	Dentina	Esmalte	-30,30 [*]	2,64	0,00	-37,09	-23,51
		Cuerpo mandibular	14,93 [*]	2,62	0,00	8,19	21,67
		Trigono retromolar	13,73 [*]	2,64	0,00	6,93	20,53
	Cuerpo mandibular	Esmalte	-45,22 [*]	2,54	0,00	-51,75	-38,70
		Dentina	-14,93 [*]	2,62	0,00	-21,67	-8,19
		Trigono retromolar	-1,20	2,54	0,97	-7,73	5,33
	Trigono retromolar	Esmalte	-44,03 [*]	2,56	0,00	-50,61	-37,45
		Dentina	-13,73 [*]	2,64	0,00	-20,52	-6,93
		Cuerpo mandibular	1,20	2,54	0,97	-5,33	7,73

Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

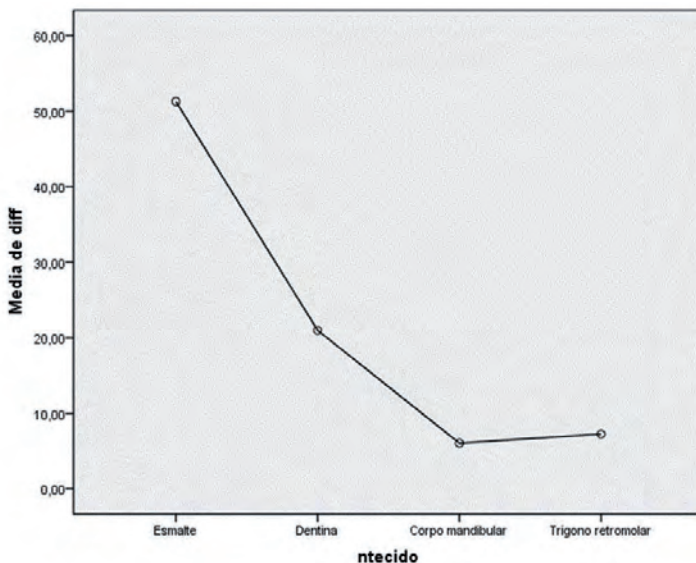
La **Tabla 15** presenta las comparaciones correspondientes a las diferencias de las medias (promedios) de los valores iniciales y finales de microdureza de superficie de los grupos en estudios, quienes reflejan un mayor grado de variabilidad en el grupo de esmalte dentario cuando comparado con los otros grupos. La diferencia se acentúa, es decir, se torna más evidente, cuando se comparan dichos

resultados con los del grupo del cuerpo mandibular y de la región del triángulo retromolar. Con respecto a la dentina radicular, existe una diferencia intergrupala significativa cuando se compara con los otros grupos, presentando una diferencia negativa cuando comparada con el esmalte dentario (debido a una mayor afección de ese tejido, y por consiguiente una mayor disminución de la dureza de superficie de las muestras evaluadas). Por otro lado, para el caso de las muestras del cuerpo mandibular y de la región del triángulo retromolar, la dentina presentó una diferencia negativa, es decir, que hubo una mayor pérdida de dureza de superficie en la dentina radicular que en los otros dos grupos, resultando en una diferencia estadísticamente significativa.

Finalmente, cuando se comparan los resultados del cuerpo y del triángulo mandibular se estableció que no hubo diferencias estadísticamente significativa entre ambos resultados, debido al hecho de obtenerse valores de las medias (promedios) muy próximos uno del otro. Esto sugeriría que ambos tejidos son afectados por la radioterapia en una misma magnitud, de acuerdo a los resultados estadísticos obtenidos.

La **Figura 45** presenta los valores de la media (promedio) de las diferencias entre los valores de microdureza de superficie inicial y final de los grupos en estudio (esmalte dentario, dentina radicular, cuerpo mandibular y región del triángulo retromolar), en el cual se observa que el esmalte obtuvo un mayor valor de la media (promedio) entre la diferencias de su media inicial y final; cuando se comparó con los otros grupos. Realzase también que hubo una similitud entre los valores de las medias del cuerpo mandibular y de la región del triángulo retromolar.

Figura 45. Media (promedio) de las diferencias de los valores de microdureza de superficie intergruppal

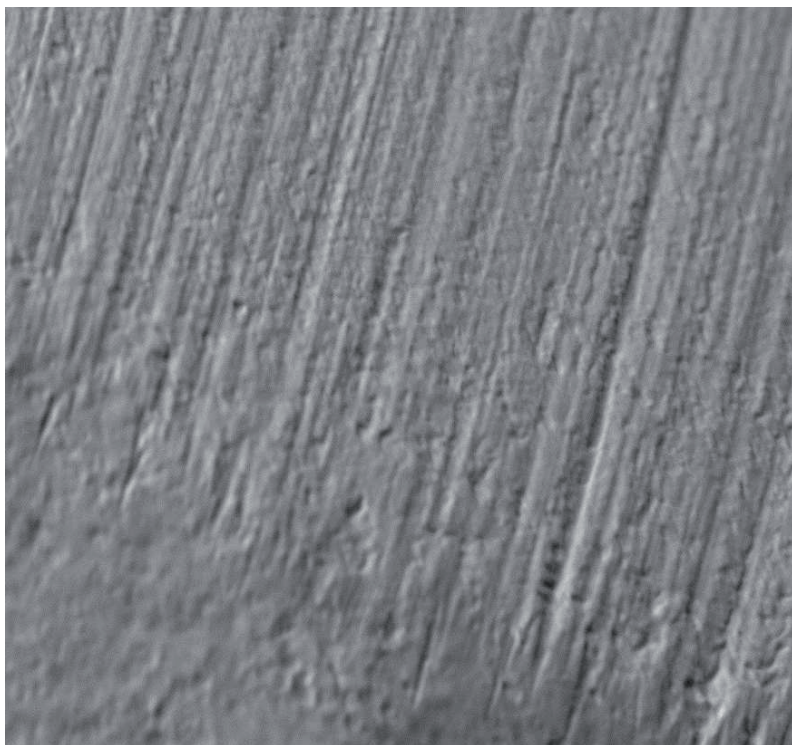


Fuente: Elaborado por el autor en el programa SPSS versión 18 para Windows

8.2 ANÁLISIS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Las Figuras, **Figura 46** y **Figura 47** , a continuación muestran las imágenes obtenidas en el microscopio electrónico de barrido, correspondiente a los análisis del grupo control e irradiado de las muestras del cuerpo mandibular y la región del trígono retromolar con la finalidad de establecerse un análisis morfológico comparativo de ambos momentos (antes y después de la irradiación)

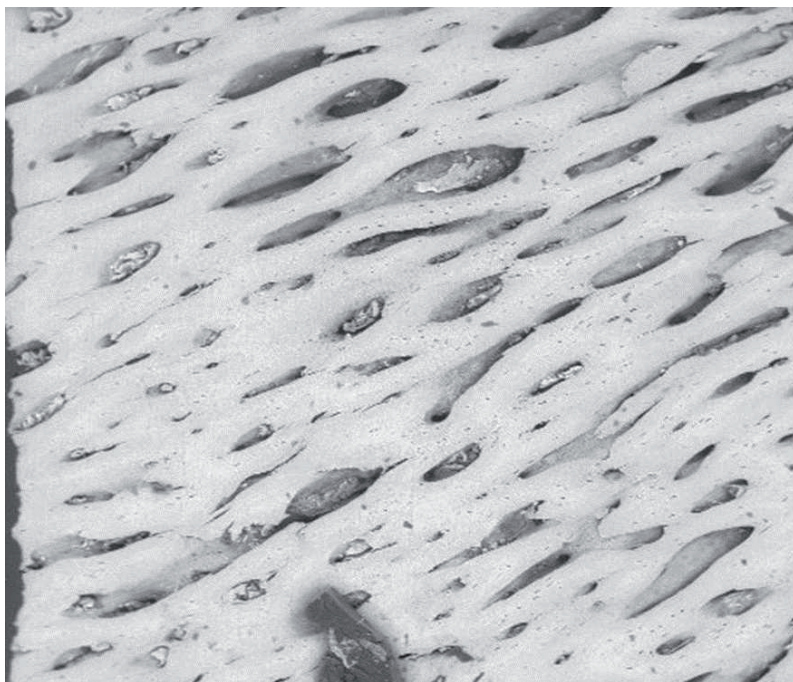
Figura 46. Muestra del cuerpo mandibular antes de la irradiación gamma



Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales – CCTM-IPEN/CNEN-SP, Brasil)

La **Figura 46**, representa la estructura de la muestra del cuerpo mandibular antes de ser irradiada, y después del pulido mecánico realizado en la polítrix. Se observa un hueso compacto, de superficie lisa, de un grado de opacidad acentuada, siendo estas características la confirmación de su alta densidad mineral y grado de compactación, inherente a este tejido. Por otro lado, se observan líneas verticales muy tenues que recorren la superficie en su totalidad, siendo probablemente creadas por causa del pulimento realizado; sin embargo, la integridad del tejido es absolutamente evidenciada en la imagen.

Figura 47. Muestras del cuerpo mandibular después de la irradiación gamma



Fuente: Autor, Centro de Caracterización de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

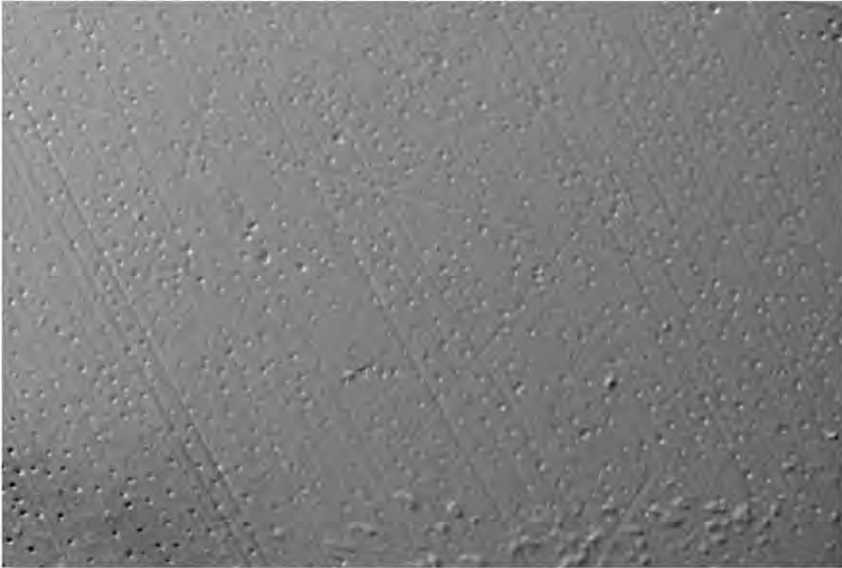
La **Figura 47**, presenta la muestra del cuerpo mandibular después de haber recibido la dosis total de 72 Gy de la radiación gamma. Se observa una superficie agujerada, evidenciándose una desestabilización estructural de la superficie, con la pérdida de continuidad y homogeneidad. Por otro lado, en la región periférica a la parte central de la muestra, se observan grietas y depresiones, las cuales se distribuyen por toda la superficie, lo que comprobaría, de hecho, el efecto deletéreo de la irradiación gamma sobre la superficie del tejido, aunque el cuerpo mandibular presente una mayor densidad y tejido cortical en mayores proporciones que lamelar. Además sumase el hecho de este tejido tener una irrigación sanguínea y nutrición

intercelular disminuida cuando comparada, específicamente, con la otra región perteneciente a este estudio, la del trigono retromolar.

Morfológicamente esta región se vio afectada en la mayoría de su superficie.

La **Figura 48**, representa la imagen obtenida de la muestra de la región del trigono retromolar antes de la irradiación gamma, y después del pulido mecánico, en la cual es posible observar una superficie lisa y uniforme, correspondiente a un tejido aparentemente saludable a nivel macrorregional, analizada con una lente de 500x aumentos. La porosidad, observada en este caso, se debe al trabeculado mayor en el tejido y a los conductos haversianos presentes.

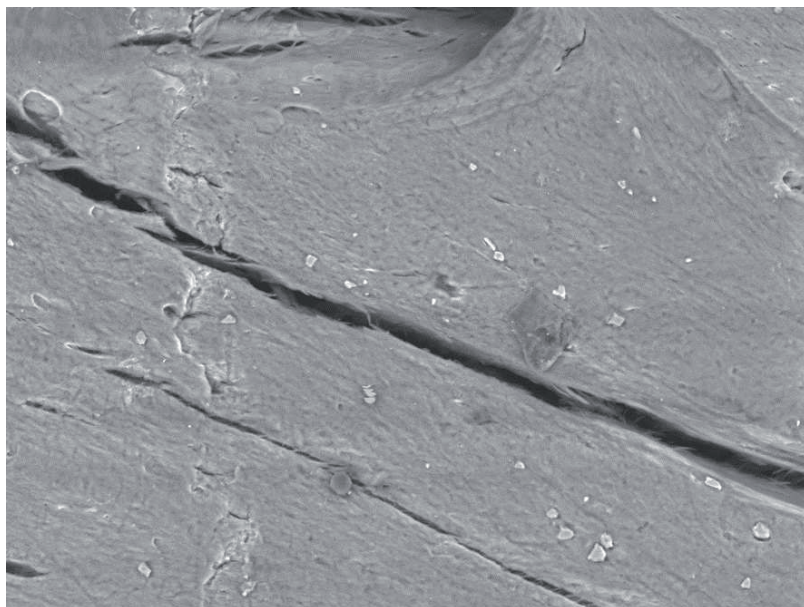
Figura 48. Muestra de la región del trigono retromolar antes de la irradiación gamma



Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

La **Erro! Autoreferência de indicador não válida.** representa la muestra de la región del trígono retromolar después de la dosis total de radiación gamma (72 Gy). La imagen muestra una marcada desorganización de la superficie analizada, presentando una grieta de longitud considerable en la región central de la superficie, además de grietas y agujeros menores alrededor de la grieta principal, por lo cual considerase que el efecto de la radiación gamma en el local irradiado ejerció un mayor efecto deletéreo en un punto específico cuando comparado con los otros locales dentro de la superficie. Por otro lado, la inestabilidad generada por la radiación gama condujo a una destrucción mayor del tejido, conjuntamente con la pérdida de dureza en la superficie confirmada con el análisis de microdureza. La región del trígono retromolar presenta una mayor cantidad de trabeculado óseo y menor tejido óseo compacto cuando se compara con las otras regiones mandibulares, por lo cual se estima que esa particularidad resultará en una mayor incidencia de ORN en ese local.

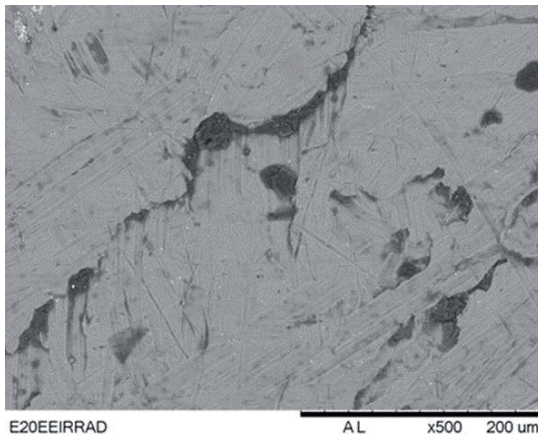
Figura 49. Muestra de la región del trígono retromolar después de la irradiación gamma



Fuente: Autor, Centro de Caracterización de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

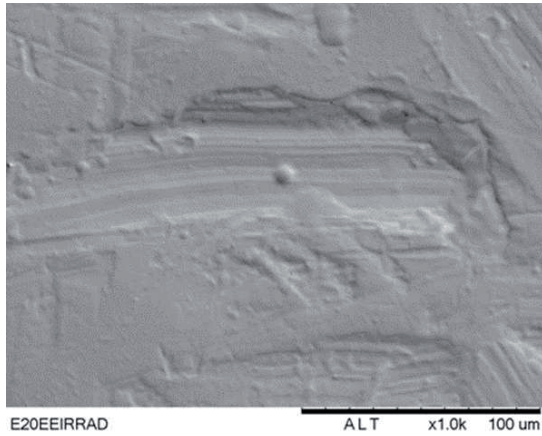
Las figuras presentadas a continuación, representan una muestra de esmalte dentario después de haber sido irradiada, mostrada a diferentes aumentos microscópicos, y en las cuales puede observarse una clara desintegración y deterioro de la superficie del esmalte, con presencia de grietas y líneas de fractura del tejido alrededor de la superficie central. La muestra fue sometida a la irradiación gamma con una dosis total absorbida de 72 Gy. En la **Figura 50**, con una lente de 500 aumentos, se puede identificar una superficie afectada por la radiación. En la **Figura 51**, con un aumento de 1000x se observa, en el modo de visualización de imagen topográfica, una superficie rugosa, heterogénea morfológicamente hablando, y con falta de continuidad con respecto a la textura. Posteriormente a un mayor aumento, 2000x, **Figura 52**, se consigue distinguir una grieta de mayor longitud al nivel de la superficie, de forma irregular y agujerada, debido a que la radiación alteró la integridad estructural de la superficie, observándose fraccionamiento del tejido duro afectado. Finalmente, en la **Figura 53**, una acentuada línea de fractura es observada en la superficie, de longitud considerable, destacada en un mayor aumento, con una lente de 4000x.

Figura 50. Muestra del esmalte dentario después de la irradiación gamma (500x)



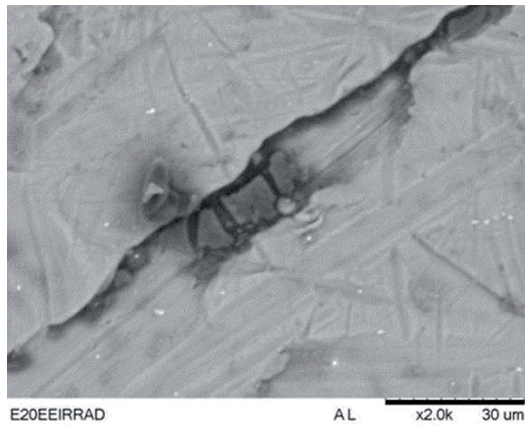
Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 51. Muestra de esmalte dentario después de la irradiación gama observada en otro ángulo (1000x)



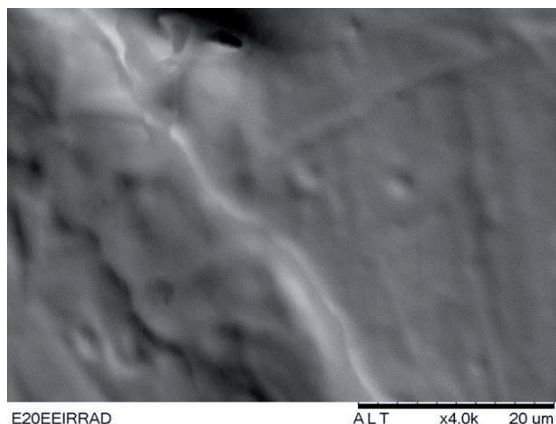
Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 52. Muestra de esmalte dentario después de la irradiación gamma, vista desde otro ángulo (2000x)



Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 53. Muestra de esmalte dentario después de la irradiación gamma, vista desde otro ángulo (4000x)

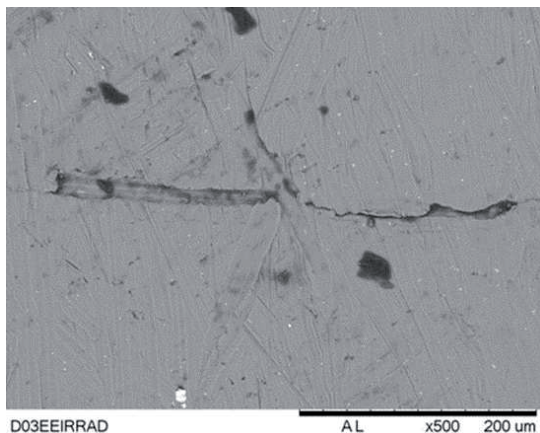


Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Las figuras a continuación presentan imágenes de la muestra de dentina radicular después de la irradiación gamma. En la **Figura 54**, con un lente de aumento de 500x, se observa una grieta de tamaño considerable en la región central de la muestra, lo que demuestra el grado de comprometimiento de la superficie en estudio (en el modo composicional del SEM para visualización de la imagen). En la **Figura 55**, se observa, desde el modo topográfico del SEM, una grieta similar a línea de fractura profunda en el eje longitudinal de la muestra, representando el grado de afección producido por la irradiación gamma con la dosis total absorbida de 72 Gy, vista con un lente de aumento de 1000x. Con respecto a la **Figura 56**, con un lente de aumento de 2000x y a partir de otro ángulo de la superficie de la muestra, se destaca otra línea de fractura, con desplazamiento mínimo de los bordes, así como la pérdida de continuidad del tejido mineralizado, lo cual representa nuevamente el grado de acometimiento a partir de la visualización desde otro ángulo de la superficie analizado, obteniéndose mayores detalles. Finalmente, en la **Figura 57**, se observa a lo largo del eje principal de la muestra una grieta que se extiende, en su mayor parte, a nivel de toda la superficie de la muestra,

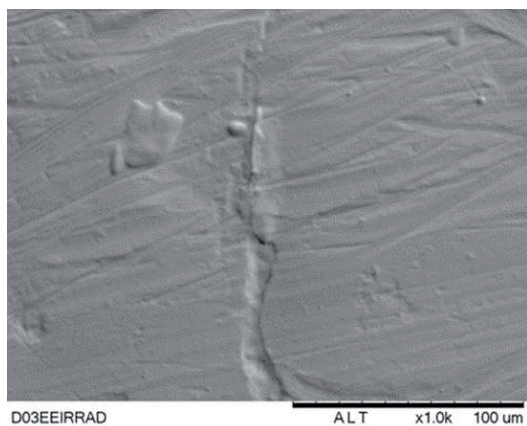
visualizándose a partir del modo topográfico, evidenciándose el efecto causado en la muestra por la irradiación gamma, con un lente de aumento de 4000x.

Figura 54. Muestra de dentina radicular después de la aplicación de la irradiación gamma, visualizada en el modo composicional del SEM (500x)



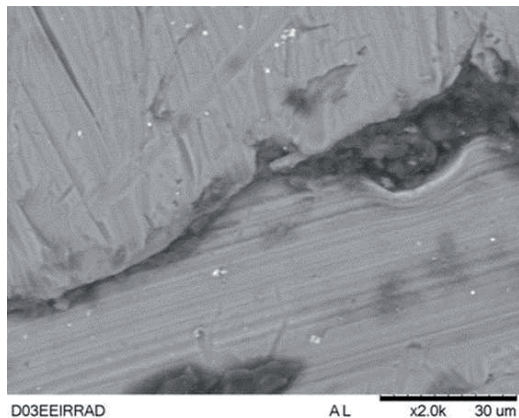
Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 55. Muestra de dentina radicular después de la aplicación de la irradiación gamma, visualizada a partir del modo topográfico, con una lente de aumento de 1000x



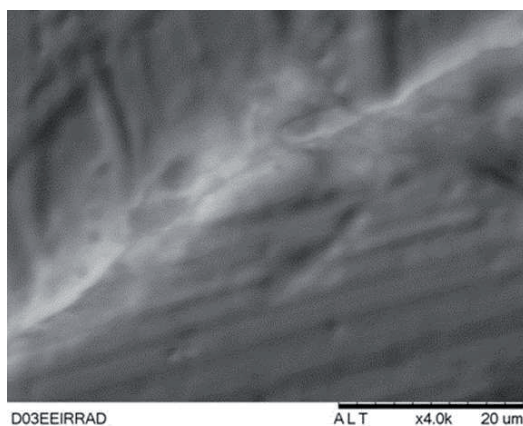
Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 56. Muestra de dentina radicular después de la aplicación de la irradiación gamma, visualizada a partir del modo composicional del SEM, con un lente de aumento de 2000x



Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM – IPEN/CNEN, SP, Brasil)

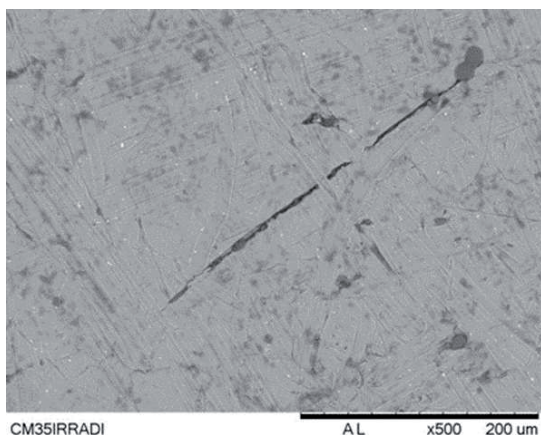
Figura 57. Muestra de dentina radicular después de la aplicación de la irradiación gamma, visualizada a partir del modo topográfico del SEM, con un aumento de 4000x



Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

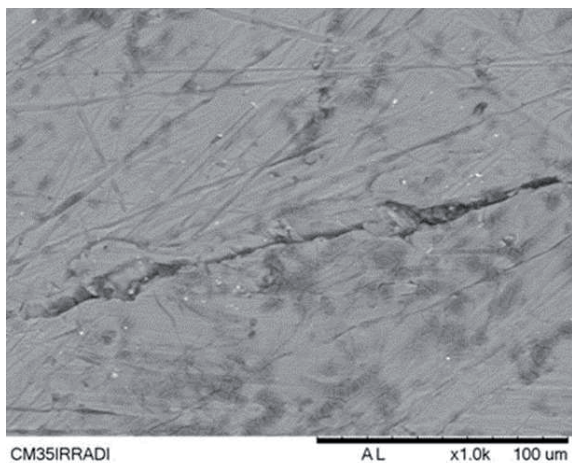
Las figuras, de la **Figura 58** a la **Figura 61**, presentan otra muestra del cuerpo mandibular. Estas evidencian los efectos deletéreos causados por la irradiación gamma en la superficie de tejido duro en diferentes aumentos. Se muestran las grietas formadas, perforaciones y líneas de fractura al nivel de la superficie afectada de la muestra sometida a la irradiación gamma, distinguiéndose los diferentes grados de acometimiento en los lentes de aumento utilizados, observándose también desplazamientos de los fragmentos en la superficie, así como la pérdida de continuidad del tejido con respecto a una superficie lisa e exenta de algún tipo de alteración morfológica. En la última imagen presentada a continuación, **Figura 61**, se observa una fragmentación progresiva alrededor de la región central, con el separo de las formas afectadas, sugiriendo aspecto de una fractura conminuta de la superficie de la muestra del cuerpo mandibular. Además, la peculiaridad presentada por esta muestra es la de mostrar diferentes tipos de grietas con profundidad reducida y una línea tenue simulando una fractura central.

Figura 58. Muestra del cuerpo mandibular después de la aplicación de la irradiación gamma, visualizada a partir del modo composicional del SEM, con un lente de aumento de 500x



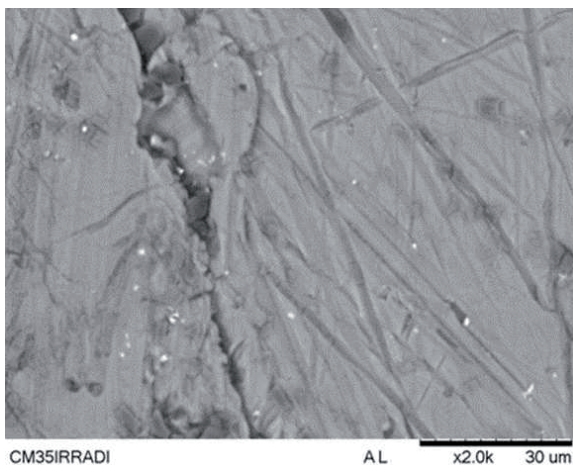
Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 59. Muestra del cuerpo mandibular después de la aplicación de la irradiación gamma, visualizado a partir del modo composicional del SEM, con un lente de aumento de 1000x



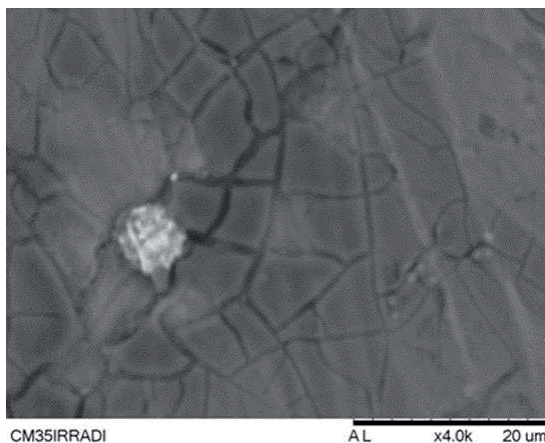
Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 60. Muestra del cuerpo mandibular después de la aplicación de la irradiación gamma, visualizada con el modo composicional del SEM, con un lente de aumento de 2000x



Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

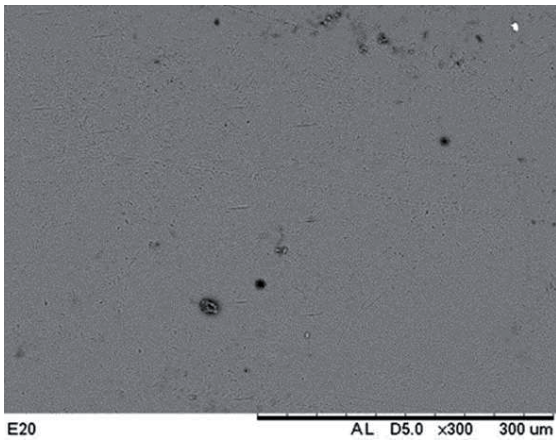
Figura 61. Muestra del cuerpo mandibular después de la irradiación gamma, visualizada con el modo topográfico del SEM, con un lente de aumento de 4000x



Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

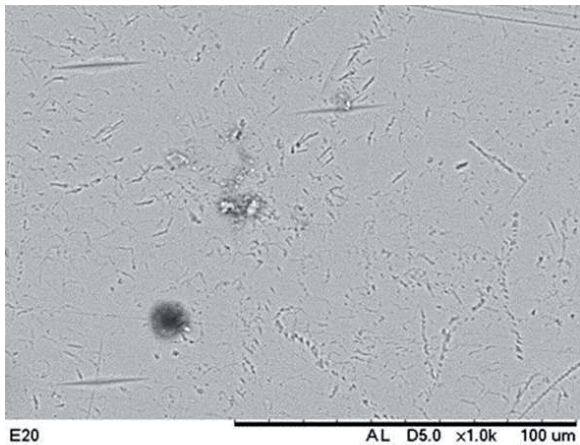
Las figuras, de la **Figura 62** a la **Figura 65**, presentan imágenes de la muestra de esmalte dentario después de la irradiación gamma, en las cuales observase las indentaciones realizadas después de la radioterapia para el cálculo del valor *Knoop* y la obtención de la microdureza de superficie final del tejido. Estas indentaciones fueron realizadas paralelas a las indentaciones iniciales, en diferentes aumentos (300x, 1000x, 4000x y 5000x). Se destacan las variaciones morfológicas observadas en cada imagen de la superficie de la muestra de esmalte por la acción ejercida por parte de la radiación gamma.

Figura 62. Muestra del esmalte dentario después de la aplicación de la irradiación gamma, visualizada a partir del modo composicional del SEM, con un lente de aumento de 300x



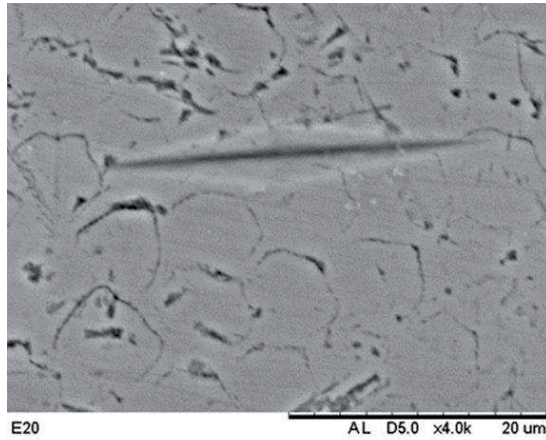
Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 63. Muestra del esmalte dentario después de la aplicación de la irradiación gamma, visualizado con el modo composicional del SEM, con un lente de contacto de 1000x



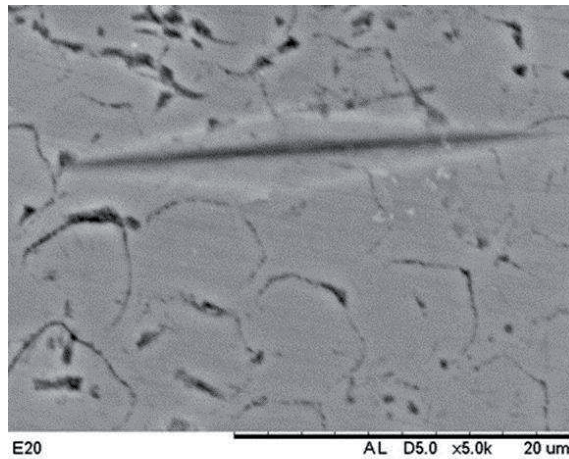
Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 64. Muestra del esmalte dentario después de la aplicación de la irradiación gamma, visualizada con el modo composicional del SEM, con un lente de aumento de 4000x



Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

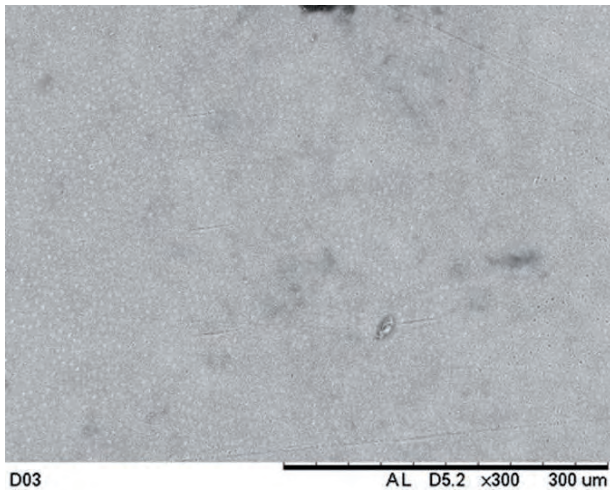
Figura 65. Muestra del esmalte dentario después de la aplicación de la irradiación gamma, visualizado con el modo composicional del SEM, con un aumento de 5000x



Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

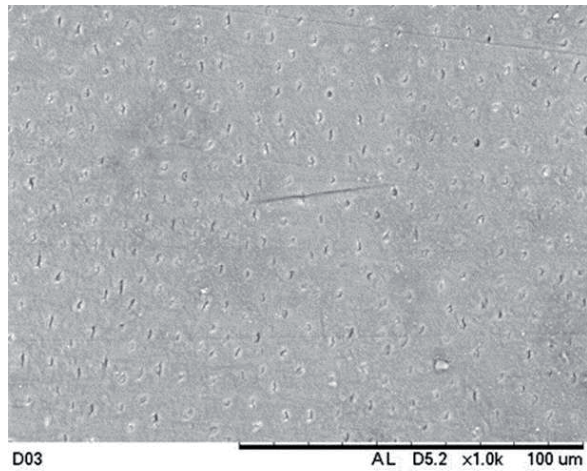
Las figuras, de la **Figura 66** a la **Figura 69**, presentan imágenes de otra muestra de dentina radicular, después de la irradiación gamma (72 Gy), las cuales presentan las indentaciones realizadas paralelamente a las iniciales antes de ser sometida a la radioterapia. Las imágenes, en diferentes aumentos, presentan la longitud de la indentación final. La indentación final, cuando se comparó con la indentación inicial, presentó una mayor longitud, **Figura 68** y **Figura 69**, por lo cual, esto representa una mayor pérdida de contenido mineral de superficie debido a una mayor penetración del indentador *Knoop*, por consecuencia, esto manifiesta una mayor pérdida de dureza de la muestra y una predisposición futura a la fractura estructural, por la disminución de la resistencia mecánica de la muestra analizada.

Figura 66. Muestra de dentina radicular después de la irradiación gamma, visualizada con un lente de aumento de 300x



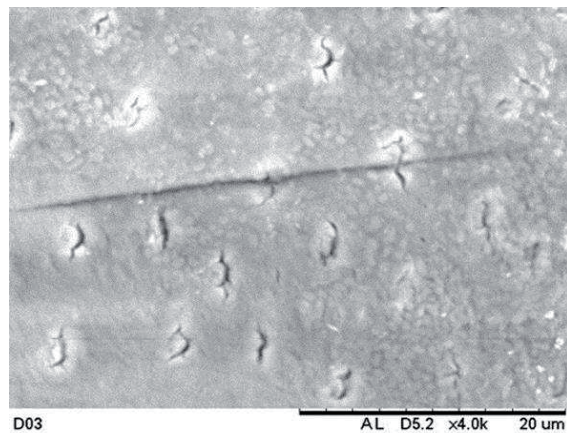
Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 67. Muestra de dentina radicular después de la aplicación de la radiación gamma, visualizada con un lente de 1000x



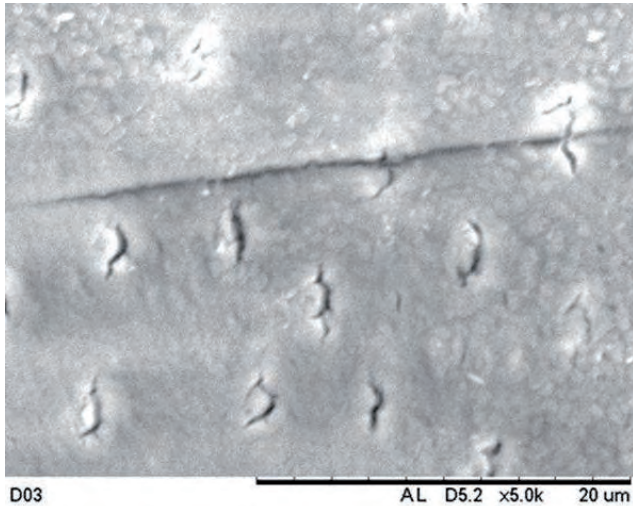
Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 68. Muestra de dentina radicular después de la irradiación gamma, visualizada con un lente de aumento de 4000x



Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

Figura 69. Muestra de dentina radicular después de la irradiación gamma, visualizada con un lente de aumento de 5000x



Fuente: Autor, Centro de Caracterización y Tecnología de los Materiales (CCTM-IPEN/CNEN, SP, Brasil)

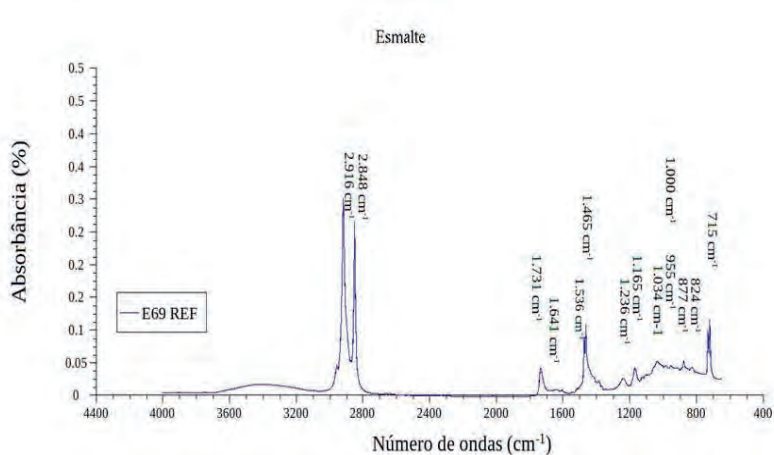
8.3 ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA EN EL INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE *FOURIER*- TÉCNICA POR REFLEXIÓN TOTAL ATENUADA (ATR-FTIR)

A partir de los espectros obtenidos por la transformada de *Fourier* después de la aplicación de la técnica de reflexión total atenuada (ATR), se realizó el análisis espectral de las bandas obtenidas en la región del infrarrojo medio, las cuales representan la absorción de los compuestos orgánicos e inorgánicos que absorbieron esta radiación en esa región espectral. Como anteriormente descrito, se analizó el espectro de las muestras del grupo denominado control (antes de la irradiación gamma) y del grupo experimental (después de la irradiación gamma).

La **Figura 70**, presenta el espectro de una muestra de esmalte dentario humano no irradiada. En este espectro obtenido en la región del infrarrojo medio,

se observan picos de absorción con mayor intensidad en algunas áreas del infrarrojo medio, cuando se comparó con los otros picos de absorción dentro del propio espectro. Por otro lado, la profundidad de las bandas también difiere entre estas, lo que representaría una heterogeneidad espectral en esta muestra control.

Figura 70. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de la muestra control del esmalte dentario



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot, Origin para Linux*

A continuación se presenta los picos de absorción y los compuestos químicos correspondientes a las siguientes bandas:

3.425 cm⁻¹: en este pico de absorción se presenta una deformación axial de la unión O-H o N-H libre;

2.916 cm⁻¹: se presenta una deformación asimétrica del enlace C-H- (perteneciente al grupo metileno de hidrocarbonato);

2.848 cm⁻¹: se presenta una deformación axial simétrica del enlace C-H- (grupo metileno del hidrocarbonato)

1.731 cm⁻¹: se presenta una deformación axial del enlace químico O-C-C- (grupo peróxido);

1.465 cm⁻¹: en este pico de absorción se observa una deformación angular del enlace químico O-H (procedente del ácido carboxílico);

1.236 cm⁻¹: se presenta una deformación angular del enlace químico N-H- (amida III);

1.165 cm⁻¹: se presenta una deformación axial asimétrica del enlace químico C-O-C- (grupo éter);

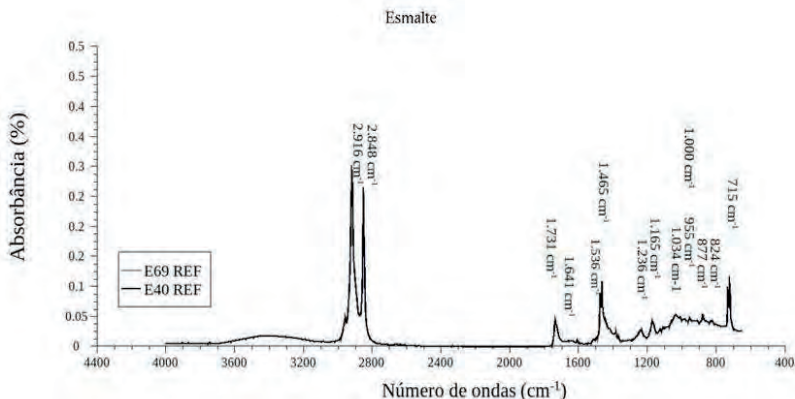
1.034 cm⁻¹: se presenta una absorción del grupo fosfato PO₄³⁻ ;

873 cm⁻¹: se presenta una absorción del grupo fosfato PO₄³⁻ ;

715 cm⁻¹: se presenta una deformación angular fuera del plano del grupo O-H unido por puentes de hidrógeno.

La **Figura 71**, presenta los espectros de las muestras de esmalte dentario antes de la irradiación gamma (muestras control, referenciales, no tratadas). Se observa el comportamiento de las bandas obtenidas idéntico en ambas muestras, presentándose los mismos picos de absorción, la misma intensidad y profundidad de las bandas. Finalmente, los compuestos orgánicos e inorgánicos obtenidos para el caso de la muestra **E40REF** fueron los mismos que para la muestra **E69REF** descritos anteriormente.

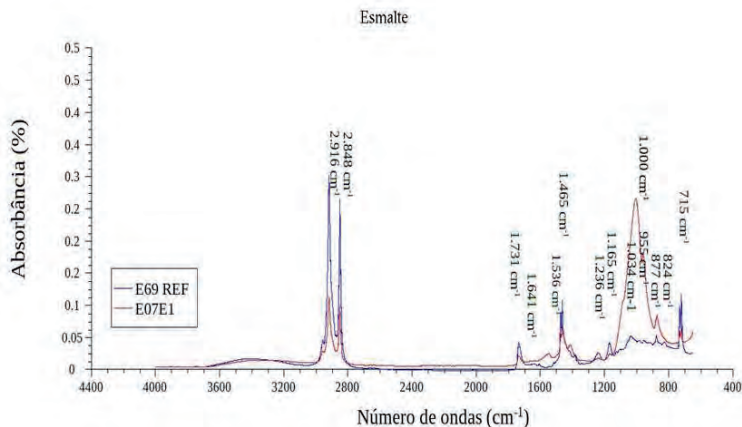
Figura 71. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control del esmalte dentario



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot, Origin para Linux*

La **Figura 72**, presenta y establece una comparación entre los espectros de las muestras de esmalte dentario, uno correspondiente a la muestra del grupo control (**E69REF**) y el otro a la muestra sometida a la irradiación gamma (**E07E1**), con una dosis total de 72 Gy. Se observa, de forma general, un comportamiento diferente entre las bandas obtenidas en cada espectro con respecto a los picos de absorción, intensidad, profundidad y desplazamiento de las mismas, lo que torna evidente que la muestra irradiada sufrió una alteración bioquímica importante. Por otro lado, la aparición de nuevas bandas de absorción en el espectro de la muestra irradiada **E07E1** supone una modificación estructural y composicional del esmalte dentario cuando sometido a una dosis de 72 Gy de radiación gamma.

Figura 72. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de la muestra control e irradiada del esmalte dentario



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot, Origin* para Linux

A continuación, se presenta los compuestos orgánicos e inorgánicos absorbidos correspondientes a los diferentes picos de absorción obtenidos en el espectro de la muestra irradiada (**E07E1**):

3.425 cm^{-1} : se presenta una deformación axial del enlace químico O-H- o N-H- libre,

2.916 cm^{-1} : en este pico de absorción se presenta una deformación axial asimétrica del enlace químico C-H- (grupo metileno del hidrocarbonato);

2.848 cm^{-1} : en este caso, presentase una deformación axial asimétrica del enlace químico C-H- (grupo metileno del hidrocarbonato);

1.731 cm^{-1} : en este pico de absorción se presenta una deformación axial del enlace químico O-C-C- (grupo peróxido);

1.536 cm^{-1} : en este pico de absorción se presenta una deformación angular del enlace químico N-H- (amida II)

1.465 cm⁻¹: presentase una deformación angular del enlace químico O-H- (proveniente del ácido carboxílico);

1.236 cm⁻¹: en este pico de absorción se presenta una deformación angular del enlace químico N-H- (amida III);

1.165 cm⁻¹: este pico de absorción presenta una deformación axial asimétrica del enlace químico C-O-C- (grupo éter);

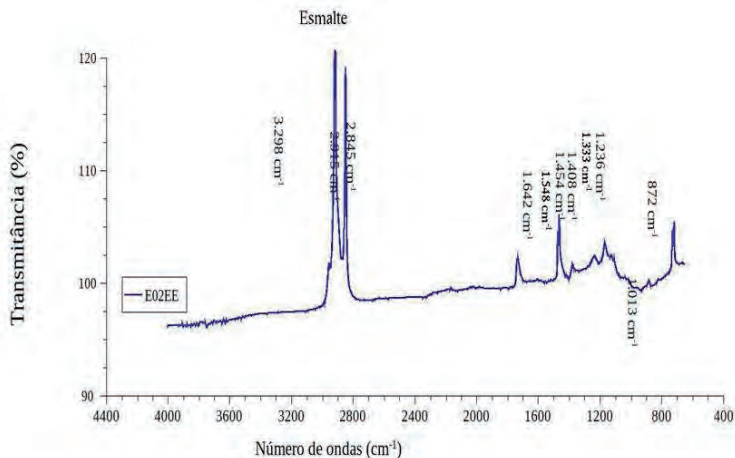
1.000 cm⁻¹: se presenta la absorción del grupo fosfato PO₄³⁻ (matriz inorgánica);

873 cm⁻¹: muestra absorción del grupo fosfato PO₄³⁻ (matriz inorgánica);

715 cm⁻¹: muestra una deformación fuera del plano del grupo O-H- unidos por puentes de hidrógeno.

En el espectro presentado en la **Figura 73**, la banda 3.425 cm⁻¹ no es evidenciada, sugiriendo que hubo degradación de la sustancia hidroxilada e que interactuaba por puentes de hidrógeno. La banda en la región de 1.035 cm⁻¹ también no se encuentra presente, mostrándose que hubo degradación de la polihidroxiapatita.

Figura 73. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de la muestra irradiada del esmalte dentario



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot, Origin para Linux*

A continuación se presentan los compuestos orgánicos e inorgánicos absorbidos en el infrarrojo medio de la muestra analizada:

2.916 cm^{-1} : en este pico de absorción se presenta una deformación axial asimétrica del enlace químico C-H- (grupo metileno del hidrocarbonato);

2.848 cm^{-1} : en este pico de absorción se presenta una deformación axial simétrica del enlace químico C-H- (grupo metileno del hidrocarbonato);

1.731 cm^{-1} : se presenta una deformación axial del enlace químico O-C-C (grupo peróxido);

1.465 cm^{-1} : para este caso se presenta una deformación angular del enlace químico O-H- (procedente del ácido carboxílico);

1.376 cm^{-1} : en este caso se presenta una deformación axial del enlace químico C-O- (ácido carboxílico);

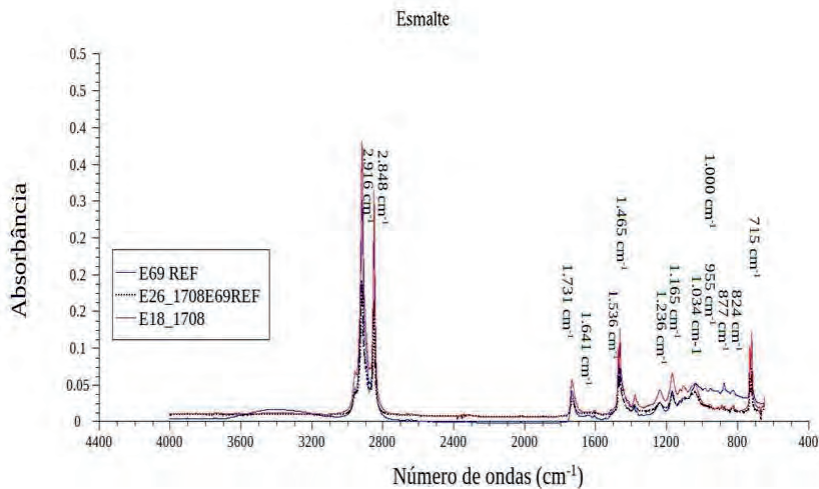
1.236 cm⁻¹: en este pico de absorción, se presenta una deformación angular del enlace químico N-H- (amida III);

1.165 cm⁻¹: se presenta una deformación axial asimétrica del enlace químico C-O-C- (grupo éter)

715 cm⁻¹: se presenta una deformación angular fuera del plano del grupo O-H- unido por puentes de hidrógeno.

La **Figura 74**, compara los espectros de la muestra de referencia y las muestras sometidas a la irradiación gamma (**E26_1708/E18_1708**), las cuales recibieron una dosis total de 72 Gy. Se observa que los espectros son similares en términos de presencia de bandas e intensidad, demostrándose que el efecto de la radiación gamma fue irrelevante en estas muestras.

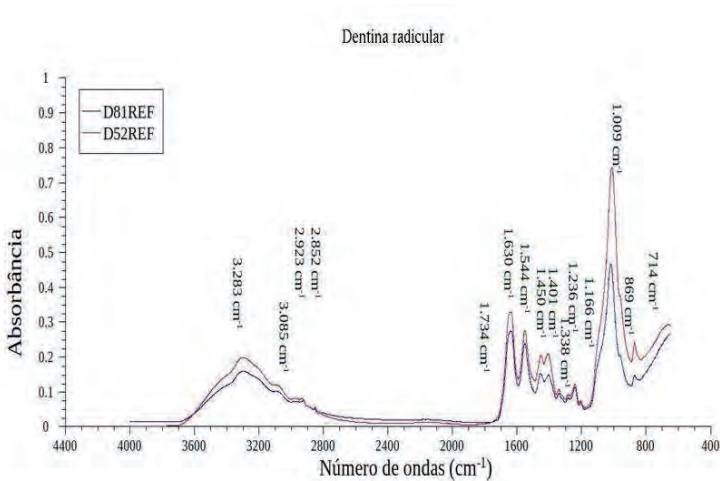
Figura 74. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio, de las muestras control e irradiada, del esmalte dentario



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin para Linux*

La **Figura 75**, presenta los espectros por absorbancia de las muestras de dentina radicular antes de la irradiación gamma, ambos espectros superpuestos, en los cuales se observa un mismo comportamiento de las bandas con respecto a los compuestos químicos que absorbieron la radiación infrarroja, determinado por cada pico de la banda. La muestra control **D81REF** presenta un espectro de mayor intensidad de absorción cuando comparado con el espectro de la otra muestra control **D52REF**.

Figura 75. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control de la dentina radicular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot, Origin para Linux*

Los compuestos provenientes de cada pico de absorción de las bandas son presentados a continuación:

Muestra D81REF:

3.283 cm⁻¹: observase una deformación axial del enlace químico O-H- ;

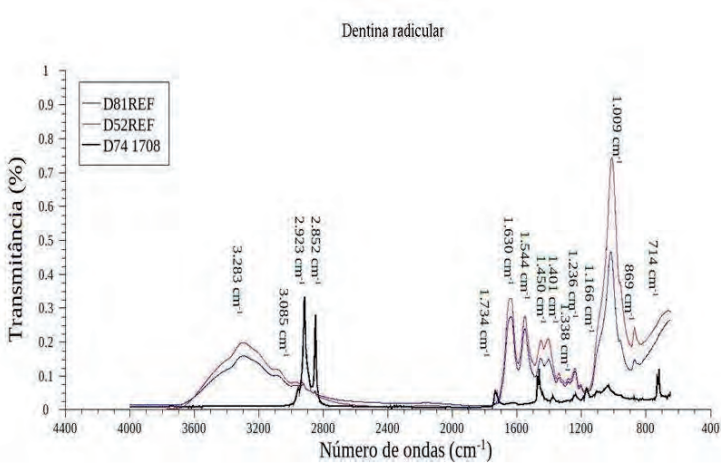
- 3.085 cm⁻¹**: se presenta una deformación axial C-H- (hidrocarbonato)
- 2.923 cm⁻¹**: se presenta una deformación axial asimétrica del enlace químico C-H- (grupo metileno del hidrocarbonato);
- 2.852 cm⁻¹**: se presenta una deformación axial simétrica del enlace químico C-H- (grupo metileno del hidrocarbonato);
- 1.630 cm⁻¹**: se presenta una deformación angular del enlace químico N-H- (amida I);
- 1.544 cm⁻¹**: se presenta una deformación angular del enlace químico N-H- (amida II);
- 1.450 cm⁻¹**: observase una deformación angular del enlace químico O-H- (procedente del ácido carboxílico);
- 1.401 cm⁻¹**: se presenta una deformación angular del enlace químico O-H- (procedente del ácido carboxílico);
- 1.338 cm⁻¹**: se presenta una deformación axial del enlace químico C-O- (ácido carboxílico);
- 1.236 cm⁻¹**: se presenta una deformación angular del enlace químico N-H- (amida III);
- 993 cm⁻¹**: se presenta la absorción del grupo fosfato PO₄³⁻;
- 869 cm⁻¹**: se presenta la absorción del grupo fosfato PO₄³⁻

En el caso de la muestra **D52REF**, los compuestos químicos absorbidos fueron los mismos, encontrados en el espectro **D81REF** descritos anteriormente; sin embargo, con picos de absorción de menor intensidad.

La **Figura 76**, muestra y establece una comparación entre los espectros de las muestras de referencia (**D81REF**, **D52REF**) y de la muestra sometida a la irradiación gamma, con una dosis total de 72 Gy (**D741708**). Se observa, en líneas

generales, una completa alteración del espectro obtenido para la muestra irradiada cuando se comparó con los espectros de referencia, en el cual se destaca que la mayoría de las bandas, en el espectro, desaparecieron, y surgieron nuevas bandas en la región espectral de 3.200 cm^{-1} a 2.800 cm^{-1} , además de una marcada profundidad de los picos de absorción que surgieron en 2.923 cm^{-1} y 2.852 cm^{-1} , cuando fueron comparados con las muestras control. Finalmente, con respecto a la intensidad de los espectros, se evidencia una clara disminución de la intensidad de las bandas obtenidas en el espectro de la muestra irradiada cuando comparadas con las muestras de referencia.

Figura 76. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control e irradiada de la dentina radicular

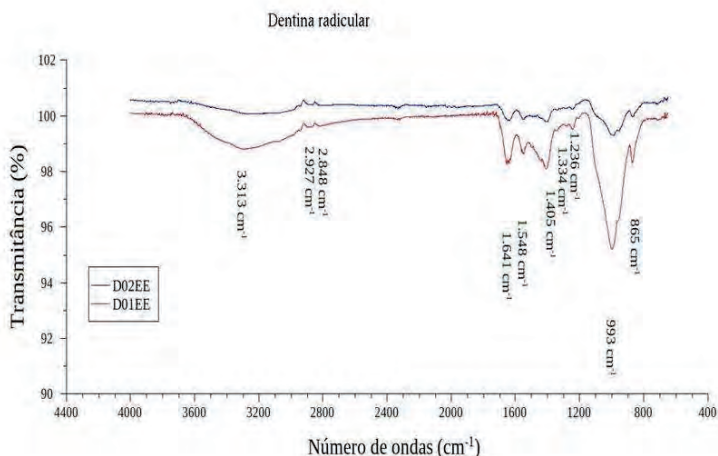


Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin* para Linux

La **Figura 77**, presenta dos espectros obtenidos a partir de dos muestras sometidas a la irradiación gamma después de recibir una dosis total de 72 Gy. Se

observa, en líneas generales, dos espectros de intensidades muy débiles con picos de absorción disminuidos cuando se compararon con los otros espectros de referencia, descritos anteriormente. Con respecto a los compuestos encontrados en los espectros (**D02EE**, **D01EE**), estos aparecen en menor intensidad en el gráfico de la muestra **D02EE** cuando se comparó con el espectro de la muestra **D01EE**, considerándose que ambas muestras recibieron la misma tasa de dosis, durante el mismo período y bajo las mismas condiciones.

Figura 77. Espectroscopia por transmitancia en el infrarrojo medio de las muestras irradiadas de la dentina radicular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin* para Linux

Los compuestos químicos y variaciones bioquímicas encontrados en estos dos espectros son descritos a continuación:

Muestra **D02EE**:

3.313 cm⁻¹: se observa una deformación axial del enlace químico O-H- (agua, matriz inorgánica, cristales de hidroxiapatita) o N-H- (matriz orgánica);

2.927 cm⁻¹: se presenta una deformación axial asimétrica del enlace químico C-H- (grupo metileno del hidrocarbonato);

2.848 cm⁻¹: se presenta una deformación axial simétrica del enlace químico C-H- (grupo metileno del hidrocarbonato);

1.641 cm⁻¹: se observa una deformación angular del enlace químico N-H- (amida I);

1.548 cm⁻¹: se presenta una deformación angular de la ligación N-H- (amida II);

1.405 cm⁻¹: se presenta una deformación angular del enlace químico O-H- (procedente del ácido carboxílico);

1.334 cm⁻¹: se presenta una deformación axial del enlace químico C-O- (ácido carboxílico);

1.236 cm⁻¹: se presenta una deformación angular del enlace químico N-H- (amida III);

993 cm⁻¹: se presenta una absorción del grupo fosfato (componente de la matriz inorgánica del tejido analizado) y

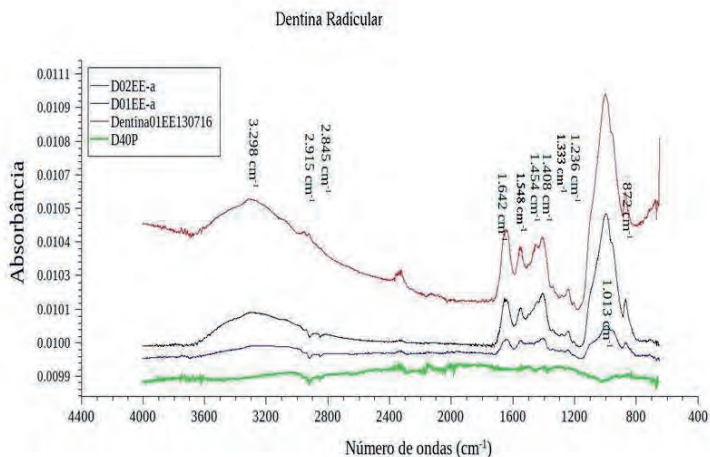
865 cm⁻¹: se presenta una absorción del grupo fosfato (componente de la matriz orgánica del tejido duro analizado).

El espectro correspondiente a la muestra **D01EE** presentó los mismos picos de absorción; consecuentemente, los mismos compuestos absorbidos; sin embargo, estos picos fueron de mayor intensidad que los de la muestra **D02EE**.

La

Figura 78, presenta y establece una comparación entre los espectros sometidos a la irradiación gamma con una dosis total de 72 Gy. En primer lugar, se observa en líneas generales, una variación en la intensidad de los espectros referente a los picos de absorción de las bandas obtenidas.

Figura 78. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras irradiadas de dentina radicular



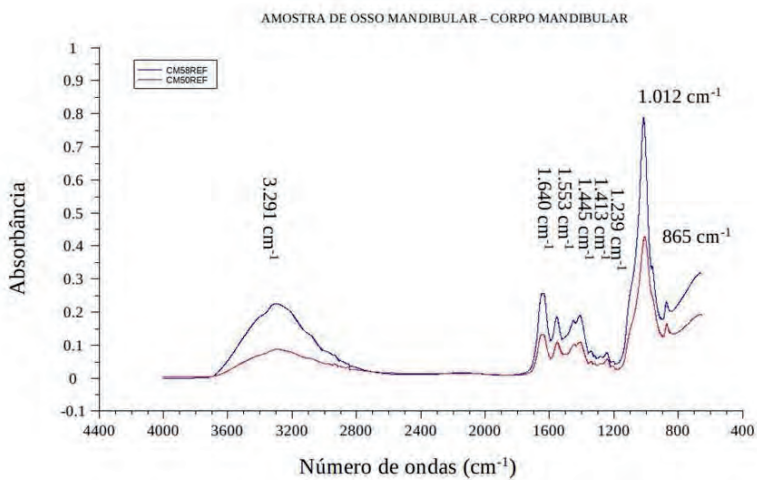
Fuente: Elaborado por el autor, en el programa Labplot, Origin para Linux

El espectro de la muestra **D02EE** presenta una intensidad muy baja, cuando se comparó con los otros espectros; sin embargo, el comportamiento de las bandas con respecto a los elementos químicos detectados en los picos de absorción es similar en los tres espectros. Con excepción de dos bandas que surgieron en el espectro de la muestra **Dentina01ee130716**, banda 3.073 cm^{-1} e 1.446 cm^{-1} . La primera banda corresponde a la deformación axial del enlace químico C-H- (hidrocarbonato) y en el segundo caso a la deformación axial del grupo C-H-, también del hidrocarbonato. Por otro lado, se notó una evidente diferencia de intensidad de los picos de absorción entre cada una de las muestras, siendo que la muestra **D40** presenta una diferencia sustancial de las bandas, cuando comparadas con las otras muestras. En el caso de la muestra **D40**, se observa bandas muy débiles y otras casi que desaparecieron debido a una intensidad extremadamente débil

del pico de absorción, por lo cual no se destacó compuesto químico absorbido debido a la marcada alteración del espectro mostrado.

El espectro presentado en la **Figura 79**, muestra las bandas de absorción correspondientes a la región espectral del infrarrojo cercano por parte de los compuestos orgánicos e inorgánicos pertenecientes a la región del cuerpo mandibular. La primera banda detectada en la región de 865 cm^{-1} , corresponde a la absorción de la radiación por parte del fosfato, componente inorgánico presente en los tejidos duros de la cavidad bucal, cuyo pico de absorción difiere en ambas muestras.

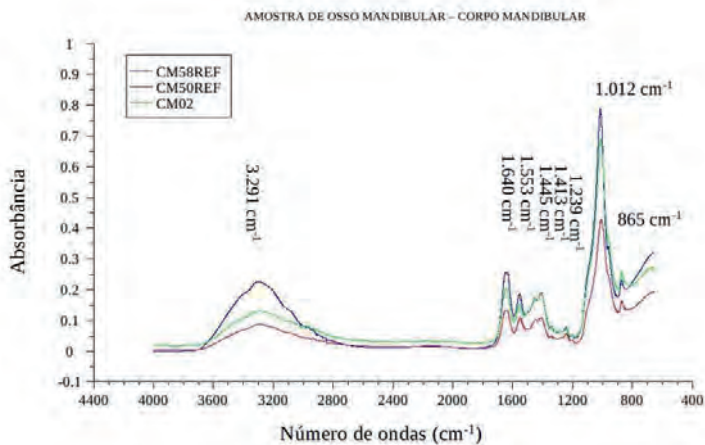
Figura 79. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor, en el programa Labplot, Origin para Linux

La **Figura 80**, presenta una comparación establecida entre los espectros de absorción de las muestras control (**CM58REF**, **CM50REF**) e irradiada (**CM02**). Es visible la disminución de la intensidad de las bandas absorbidas por la muestra después de la irradiación de 72 Gy cuando comparada con las muestras control. Cualitativa y comparativamente, los espectros presentan un comportamiento similar, con absorción de la radiación infrarroja por los compuestos de las muestras no tratadas, cuando comparadas con la muestra que recibió la irradiación gamma.

Figura 80. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular

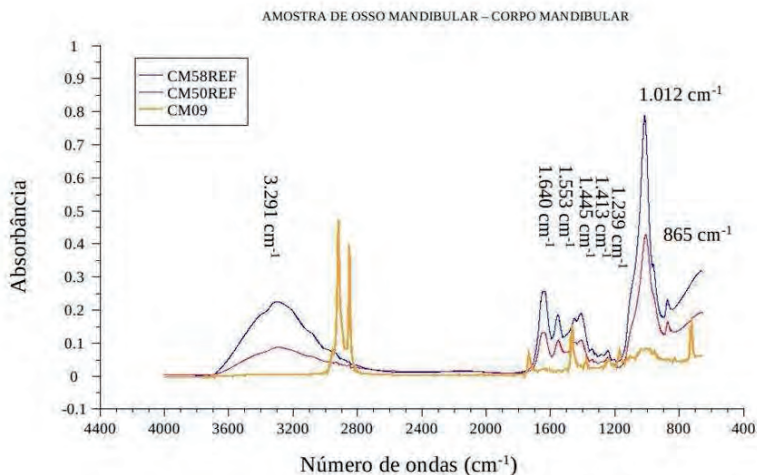


Fuente: Elaborado por el autor, en el programa *Labplot*, *Origin* para Linux

La **Figura 81**, presenta y establece una comparación entre los espectros de las muestras no irradiadas (**CM58REF**, **CM50REF**) y de la muestra que recibió una dosis total de 72 Gy (**CM09**). Pódese evidenciar una completa alteración del espectro de la muestra irradiada cuando comparado con los espectros

referenciales, visualizándose la desaparición de las bandas 3.291 cm^{-1} , 1.643 cm^{-1} , 1.553 cm^{-1} , 1.413 cm^{-1} , 1.012 cm^{-1} , y 865 cm^{-1} . Por otro lado, surgen otras bandas de muy baja intensidad las cuales manifiestan una clara modificación estructural y composicional del tejido duro sometido a la irradiación gamma.

Figura 81. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular

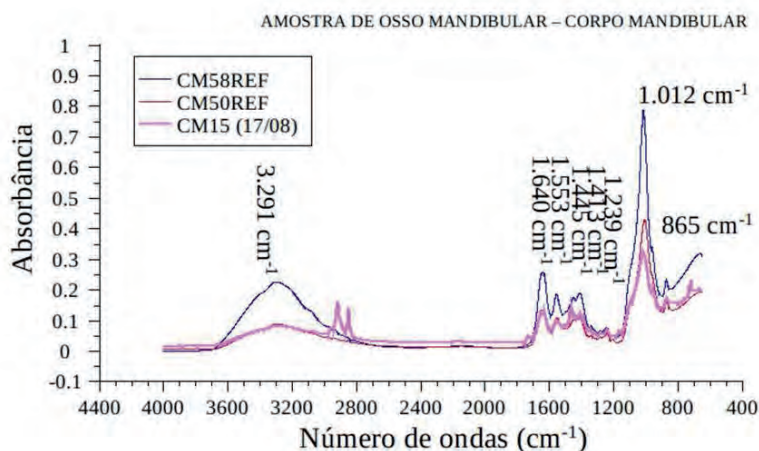


Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin* para *Linux*

El gráfico de la **Figura 82**, presenta y establece una comparación entre los espectros de las muestras control (**CM58REF**, **CM50REF**) y de la muestra irradiada con una dosis total de 72 Gy (**CM15**). Se evidencia una disminución en la intensidad de las bandas absorbidas además de los picos de absorción de la radiación infrarroja por los compuestos orgánicos e inorgánicos detectados en el análisis espectral. Se observa una disminución de la absorción de fosfato inorgánico (865 cm^{-1}). La banda 1.012 cm^{-1} fue la que presentó una mayor disminución de la intensidad cuando comparada con los espectros de la muestra control. Por otro lado,

se constató el surgimiento de nuevas bandas en las regiones espectrales entre 3.200 cm^{-1} – 2.800 cm^{-1} (bandas profundas: 2.917 cm^{-1} , 2.851 cm^{-1}).

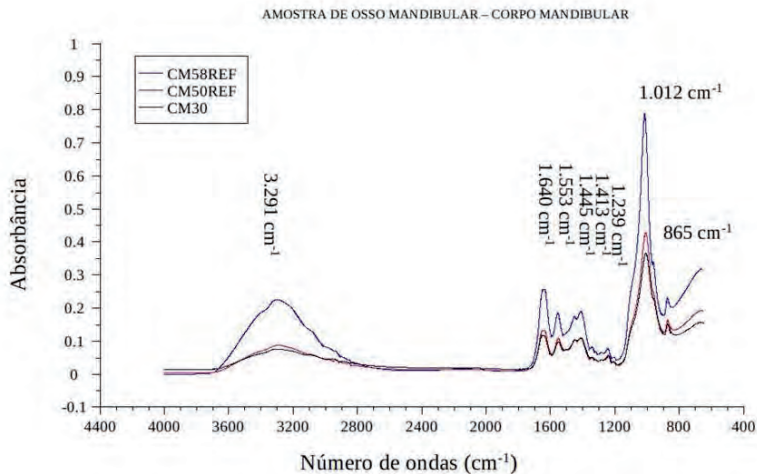
Figura 82. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin para Linux*

La **Figura 83**, presenta y establece una comparación espectral entre los espectros de las muestras de referencia (**CM58REF**, **CM50REF**) y el espectro de la muestra sometida a la irradiación gamma con una dosis total de 72 Gy (**CM30**). Se observa un comportamiento similar de absorción con respecto a las bandas obtenidas por todos los espectros; sin embargo, cuando el espectro de la muestra irradiada es comparado con el espectro de la muestra **CM58REF**, se evidencia una disminución en la intensidad de los picos de las bandas obtenidas en todas las regiones de la región espectral, siendo la banda 1.012 cm^{-1} que presentó una mayor disminución de intensidad presentada por la muestra **CM30**.

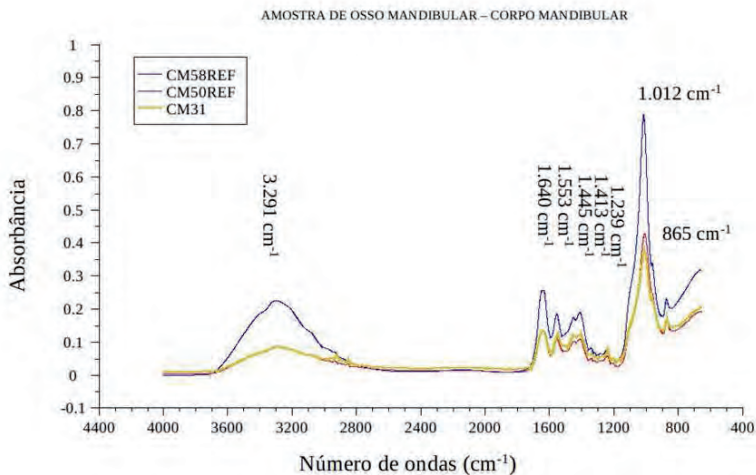
Figura 83. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin* para *Linux*

La **Figura 84**, presenta y establece una comparación entre las muestras de referencia (**CM58REF**, **CM50REF**) y la muestra sometida a la irradiación gamma (**CM31**). Las bandas absorbidas en todos los casos presentan comportamiento similar con respecto a los compuestos orgánicos e inorgánicos encontrados. Se observa una disminución de la intensidad en el pico de la banda 1.012 cm⁻¹.

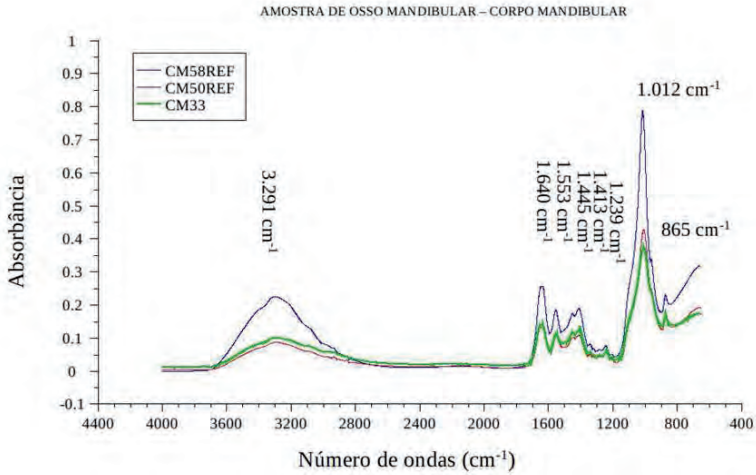
Figura 84. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin para Linux*

La **Figura 85**, presenta y establece una comparación espectral entre las bandas absorbidas en las muestras del grupo control (**CM58REF**, **CM50REF**) y en la muestra sometida a la irradiación gamma (**CM33**). Se observa una disminución en la intensidad del pico de la banda 1.012 cm^{-1} de la muestra irradiada cuando comparada con las muestras control, evidenciándose una mayor disminución cuando comparada específicamente con la muestra de referencia **CM58REF**. Se observa el resto de las bandas en todos los espectros representados en el gráfico.

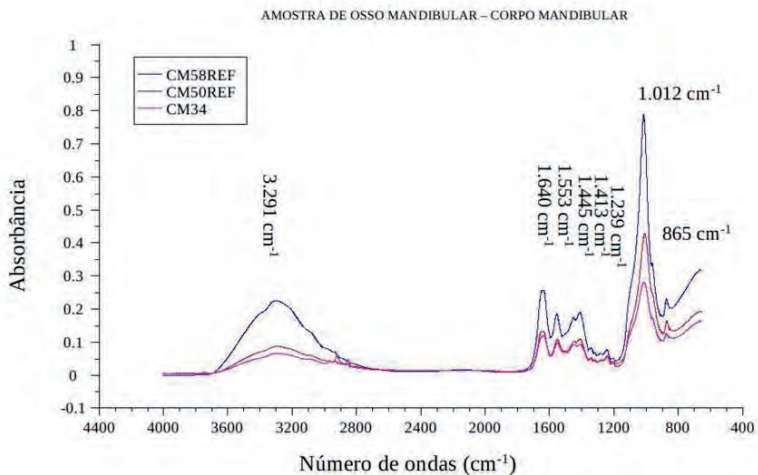
Figura 85. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el programa *Labplot*, *Origin para Linux*

La **Figura 86**, presenta y establece una comparación espectral entre los espectros del grupo control (**CM58REF**, **CM50REF**) y del grupo irradiado (**CM34**). En este caso se analizó el espectro de la muestra **CM34**, sometida a la irradiación gamma con una dosis total de 72 Gy, en el cual se observa una clara disminución de la intensidad de los picos de las bandas obtenidas, correspondientes a los compuestos orgánicos e inorgánicos encontrados, absorbiendo la radiación infrarroja. Notase una evidente disminución de los picos de las bandas 3.291 cm⁻¹ e 1.012 cm⁻¹ del espectro obtenido de la muestra irradiada cuando comparado con el espectro de la muestra no tratada **CM58REF**. Por otro lado, se describe la aparición de bandas muy tenues en la región espectral entre 3.200 cm⁻¹ y 2.800 cm⁻¹.

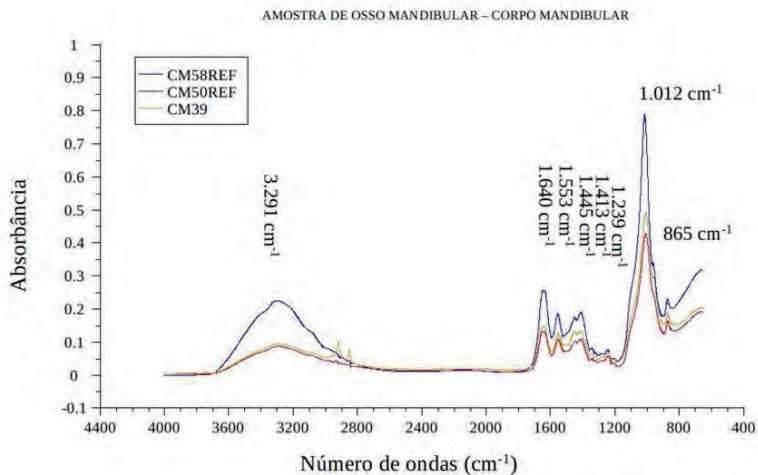
Figura 86. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin para Linux*

La **Figura 87**, presenta y establece una comparación entre los espectros de las muestras control (**CM58REF**, **CM50REF**) y del grupo irradiado (**CM39**). En este caso se observan las mismas bandas en todos los espectros analizados, evidenciándose una clara disminución del pico de absorción de la banda 1.012 cm^{-1} de la muestra irradiada cuando comparada con los picos de las bandas en las muestras control. Por otro lado, la aparición de los picos de bandas profundas y de muy baja intensidad en la región de 3.200 cm^{-1} y 2.800 cm^{-1} fue observada.

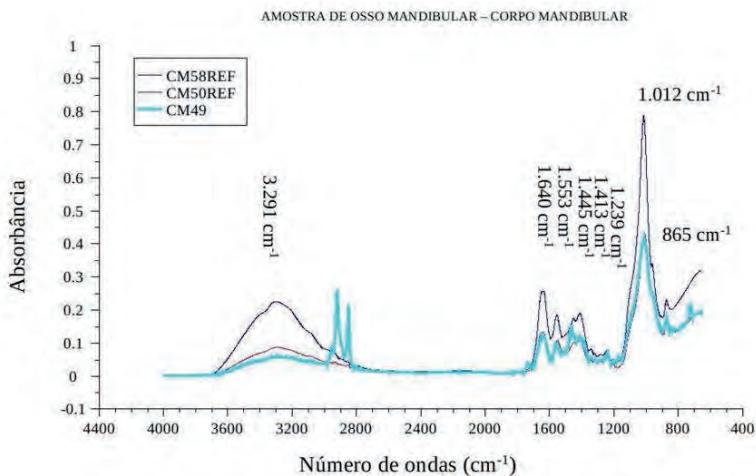
Figura 87. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot, Origin para Linux*

La **Figura 88**, presenta los espectros de las muestras de referencia (**CM58REF**, **CM50REF**) comparados con el espectro de la muestra irradiada con una dosis total de 72 Gy (**CM49**). En un primer momento, se observa la desaparición de algunas bandas en el caso del espectro de la muestra **CM49**, específicamente la banda 3.291 cm⁻¹, la cual representa a la deformación angular del radical oxidrilo (OH⁻¹). Por otro lado, se observa una disminución de la intensidad de las bandas de forma general, especialmente en el pico de la banda 1.012 cm⁻¹. Finalmente, observase el surgimiento de nuevas bandas en la región espectral de 3.200 cm⁻¹ y 2.800 cm⁻¹, las cuales se caracterizan por ser profundas, de baja intensidad, además de la bandas 1.445 cm⁻¹, la cual caracterizase por ser menos intensa cuando comparada con las otras bandas del grupo control.

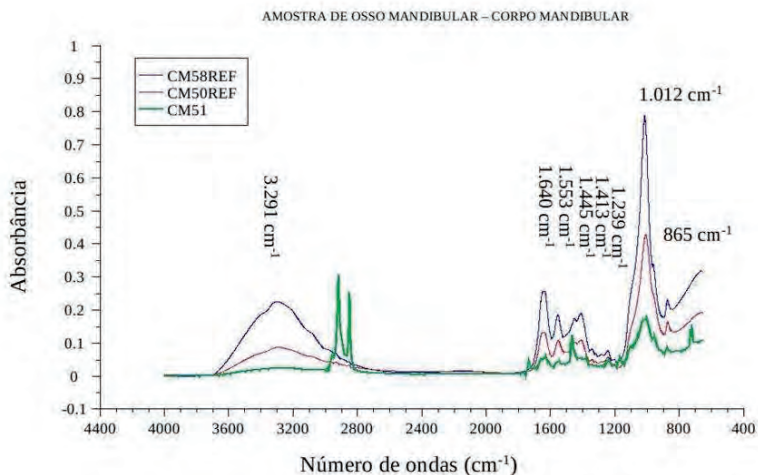
Figura 88. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin para Linux*

La **Figura 89**, se presentan los espectros de absorción de las muestras del grupo control (**CM58REF**, **CM50REF**) y de la muestra irradiada con una dosis total de 72 Gy (**CM51**). Se observa una disminución, de forma general, en la intensidad de los picos de las bandas obtenidas del grupo irradiado cuando comparado con los del grupo control, específicamente el pico de la banda 1.012 cm⁻¹. Por otro lado, observase el surgimiento de las otras bandas de absorción, profundas y de baja intensidad en la región espectral de 3.200 cm⁻¹ a 2.800 cm⁻¹, así como las bandas 1.737 cm⁻¹, 1.168 cm⁻¹, 1.113 cm⁻¹, y 719 cm⁻¹. Finalmente, se constata la desaparición de la banda 3.291 cm⁻¹.

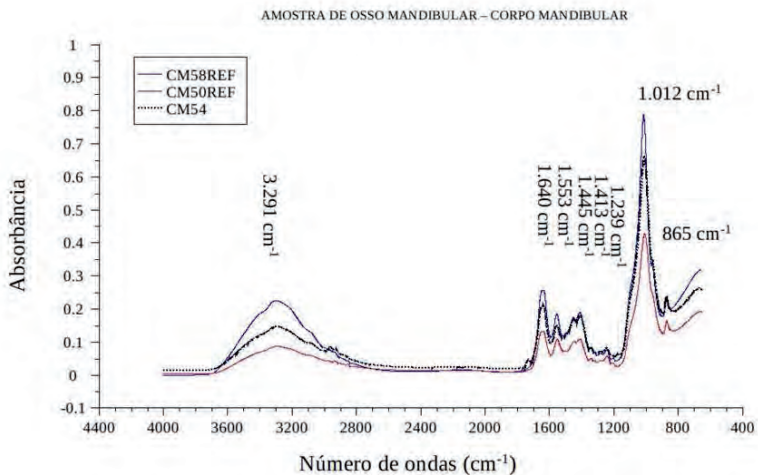
Figura 89. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio para las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa Labplot, Origin para Linux

En la **Figura 90**, se observa un comportamiento espectral similar en todos los espectros presentados, tanto del grupo control (**CM58REF**, **CM50REF**) como de la muestra irradiada (**CM54**). Notase una disminución, de forma general, en la intensidad de los picos de las bandas obtenidas en el espectro de la muestra irradiada (**CM54**), principalmente cuando comparada con la muestra control (**CM58REF**). Se constata una disminución acentuada del pico de absorción de la banda 1.012 cm⁻¹ cuando comparada con las otras bandas de absorción.

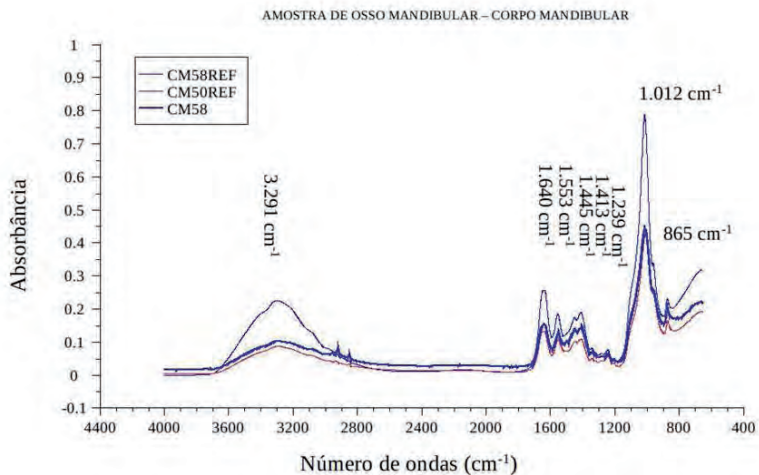
Figura 90. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin para Linux*

En la **Figura 91**, se presentan los espectros de las muestras de referencia (**CM58REF**, **CM50REF**) y la muestra irradiada (**CM58**). Se observa un comportamiento similar de las bandas con respecto a la cantidad y a las bandas propiamente dichas. Notase también, una disminución general en la intensidad de los espectros correspondientes a la muestra irradiada, específicamente los picos de absorción de las bandas 3.291 cm^{-1} y 1.012 cm^{-1} principalmente.

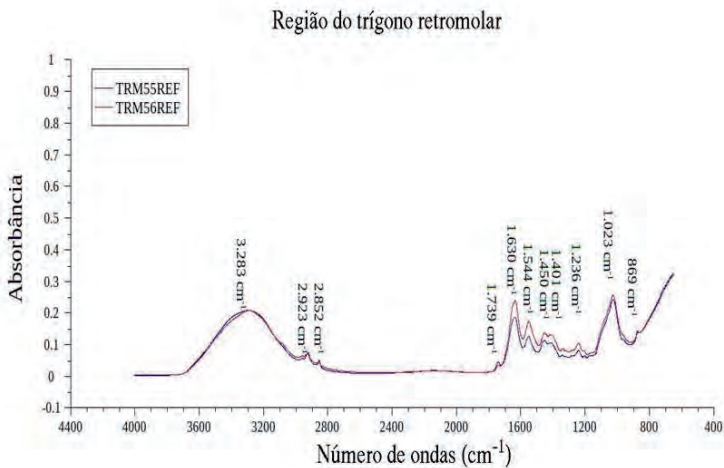
Figura 91. Espectroscopia por absorción del infrarrojo medio de las muestras control e irradiada del cuerpo mandibular



Fuente: Elaborado por el autor en el programa Labplot, Origin para Linux

La **Figura 92**, a continuación presenta los espectros por absorbancia de las muestras control (**TRM55REF**, **TRM56REF**), las cuales no fueron sometidas a la irradiación gamma. Se observan diferentes picos de bandas formadas, lo que representa la absorción de la radiación infrarroja por los diferentes compuestos orgánicos e inorgánicos que hacen parte de la armazón composicional de este tejido duro.

Figura 92. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras control de la región del trigono retromolar



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin* para Linux

A continuación será descrito los comportamientos de las diferentes bandas presentadas en los espectros, observándose semejanzas con los espectros de las muestras no irradiada de la región del cuerpo mandibular, sin embargo, existe la presencia de las siguientes bandas:

3.283 cm⁻¹: se presenta una deformación axial del enlace químico de O-H-, correspondiente a los cristales de hidroxiapatita presentes en la matriz inorgánica del tejido;

2.923 cm⁻¹: se presenta una deformación axial asimétrica en el enlace químico C-H-, correspondiente al grupo metileno del hidrocarbonato (matriz orgánica);

2.852 cm⁻¹: se presenta una deformación axial asimétrica del enlace químico C-H-, correspondiente también al grupo metileno del hidrocarbonato;

1.739 cm⁻¹: se presenta una deformación axial del enlace químico del grupo peróxido (O-C-C-);

1.630 cm⁻¹: se presenta una deformación angular del enlace químico N-H-, correspondiente al grupo amida I (matriz orgánica);

1.544 cm⁻¹: se interpreta como la deformación angular del enlace químico N-H-, correspondiente al grupo amida II (matriz orgánica);

1.450 cm⁻¹: correspondiente a la deformación angular del enlace químico O-H-, proveniente del ácido carboxílico;

1.401 cm⁻¹: se presenta una deformación angular del enlace químico O-H-, procedente del ácido carboxílico;

1.236 cm⁻¹; corresponde a la deformación angular del enlace químico N-H-, correspondiente al grupo amida II (matriz orgánica);

1.023 cm⁻¹: pico de banda correspondiente a la absorción de la radiación infrarroja por parte del grupo fosfato (matriz inorgánica);

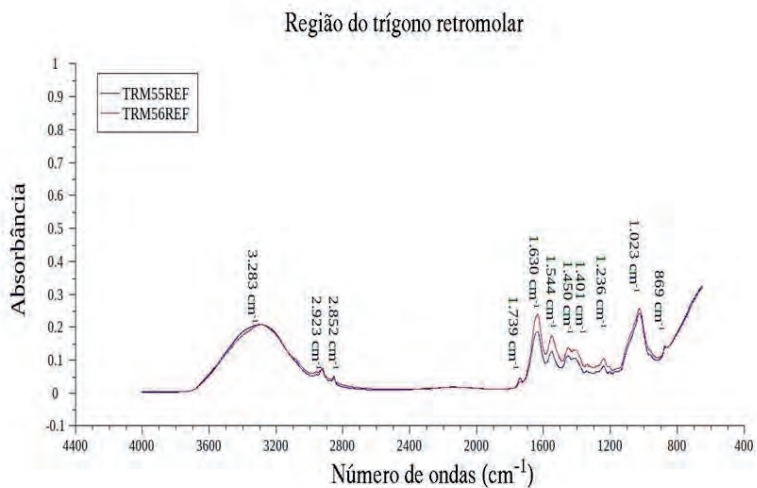
869 cm⁻¹: correspondiente a la absorción de la radiación por parte del grupo fosfato (matriz inorgánica).

Para el caso del gráfico espectral de la muestra control **TRM56REF** se presentan los mismos picos de absorción por parte de los compuestos orgánicos e inorgánicos anteriormente descritos.

En la **Figura 93**, se presentan los espectros de las muestras sometidas a la irradiación gamma (**TRM02**, **TRM07**, **TRM51**) a través del análisis por la técnica de reflexión total atenuada (ATR-FTIR). Se observa un comportamiento similar entre las bandas obtenidas en cada espectro, siendo que la intensidad de los picos de absorción de las bandas en la muestra **TRM07** presentan una mayor intensidad cuando comparada con las otras muestras. La muestra **TRM51** presenta picos de absorción de las bandas *semejantes* a los de la muestra **TRM02**; sin embargo, con

una notable disminución del pico de absorción de la banda 1.004 cm^{-1} cuando comparada con el pico de absorción de la misma banda en la muestra **TRM07**.

Figura 93. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras de la región del triángulo retromolar



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin para Linux*

A continuación, se presentan los compuestos bioquímicos representados por los picos de absorción en la región espectral para la muestra **TRM02**:

3.425 cm^{-1} : se presenta una deformación axial del enlace químico O-H- (correspondiente a los cristales de hidroxiapatita, los cuales forman parte de la matriz inorgánica del tejido duro analizado) o N-H- libre (forma parte de la matriz orgánica);

3.313 cm^{-1} : se presenta una deformación axial del enlace O-H- (correspondiente a la estructura de los cristales de hidroxiapatita, los cuales forman parte de la matriz orgánica del tejido duro analizado) o N-H- (matriz orgánica);

3.073 cm⁻¹: se presenta una deformación axial del enlace químico C-H- (hidrocarbonato);

2.953 cm⁻¹: se presenta una deformación del enlace químico C-H- alifático;

2.927 cm⁻¹: se presenta una deformación axial asimétrica del enlace químico C-H- (grupo metileno del hidrocarbonato);

2.848 cm⁻¹: se presenta una deformación axial simétrica del enlace químico C-H- (grupo metileno del hidrocarbonato);

1.641 cm⁻¹: se presenta una deformación angular de enlace químico N-H- (amida I), correspondiente a la matriz orgánica del tejido duro analizado;

1.446 cm⁻¹: se presenta una deformación angular del enlace químico O-H- (procedente del ácido carboxílico);

1.405 cm⁻¹: se presenta una deformación angular del enlace químico O-H- (procedente del ácido carboxílico);

1.334 cm⁻¹: se presenta una deformación axial del enlace químico C-O- (ácido carboxílico);

1.236 cm⁻¹: se presenta una deformación angular del enlace químico N-H- (amida III);

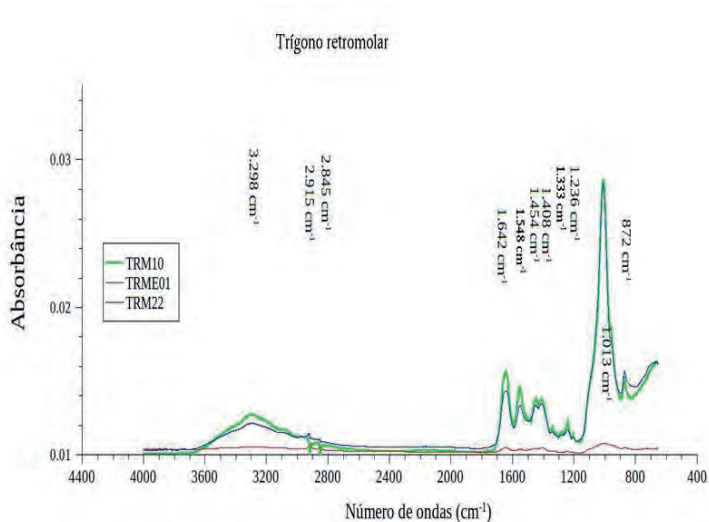
1.008 cm⁻¹: se presenta la absorción del grupo fosfato PO₄³⁻, correspondiente a la matriz inorgánica del tejido duro analizado;

865 cm⁻¹: se presenta la absorción del grupo fosfato PO₄³⁻, correspondiente a la matriz inorgánica del tejido duro analizado.

La muestra **TRM07** presentó los mismos compuestos anteriormente descritos en la muestra **TRM02**; sin embargo, con picos de absorción de mayor intensidad. En el caso del espectro de la muestra **TRM51** no fueron encontrados elementos químicos significativos por el hecho de este presentar picos de absorción de muy baja intensidad.

En la **Figura 94**, se presentan los espectros de las muestras sometidas a la irradiación gamma (**TRM10, TRME01, TRM22**) a través del análisis por reflexión total atenuada (ATR.FTIR). Se observa un comportamiento similar entre las bandas obtenidas en cada espectro, siendo que la intensidad de los picos de absorción de esta varía ligeramente de una muestra para otra, exceptuándose el espectro de la muestra irradiada **TRME01**, debido a que esta presenta absorción casi nula, de muy baja intensidad. Los picos de absorción de las bandas en la muestra **TRM07** presentan una mayor intensidad cuando comparados con los picos de las otras muestras. La muestra **TRM10** presenta picos de absorción de bandas semejantes a los observados en la muestra **TRM22**. Finalmente, nótese los mismos compuestos orgánicos e inorgánicos detectados en todos los espectros y descritos anteriormente en los espectros de las muestras **TRM02** y **TRM07**.

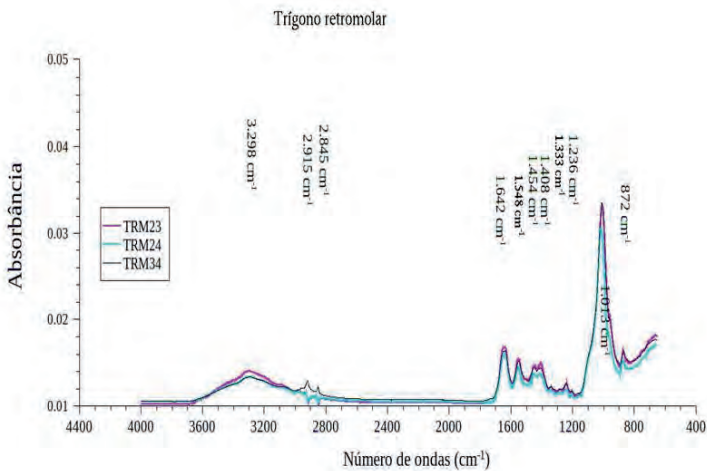
Figura 94. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras irradiadas de la región del trigono retromolar



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot, Origin para Linux*

En la **Figura 95**, se presenta los espectros de las muestras sometidas a la irradiación gamma (**TRM23, TRM 24, TRM 34**) a través del análisis por reflexión total atenuada (ATR-FTIR). Se observa un comportamiento similar entre las bandas obtenidas en cada espectro, siendo que la intensidad de los picos de absorción de esta varía ligeramente de una muestra para otra. Por otro lado, obsérvense los mismos compuestos orgánicos e inorgánicos detectados en todos los espectros y descritos anteriormente tales como fue fueron descritos para las muestras **TRM02** y **TRM07**.

Figura 95. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo de las muestras irradiadas de la región del trigono retromolar

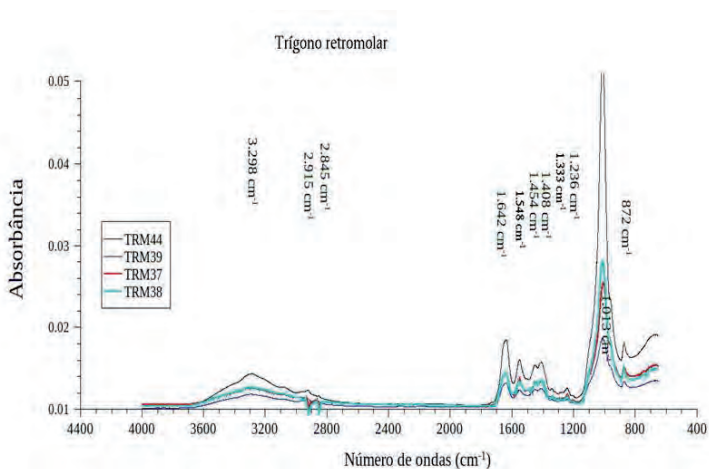


Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot, Origin* para Linux

La **Figura 96**, presenta los espectros de las muestras sometidas a la irradiación gamma (**TRM44, TRM 39, TRM37, TRM38**) a través del análisis por reflexión total atenuada (ATR-FTIR). Se observa un comportamiento similar entre las bandas obtenidas en cada espectro, siendo que la intensidad de los picos de

absorción de esta varía ligeramente de una muestra para otra. Por otro lado, obsérvense los mismos compuestos orgánicos e inorgánicos detectados en todos los espectros y descritos anteriormente para el caso de las muestras **TRM02** y **TRM07**.

Figura 96. Espectroscopia por absorción en el infrarrojo medio de las muestras irradiadas de la región del trigono retromolar



Fuente: Elaborado por el autor en el programa *Labplot*, *Origin* para *Linux*

CAPÍTULO IX
DISCUSIÓN

Todas las muestras analizadas en el presente estudio presentaron los efectos de la radiación gamma en diferentes grados. Estos efectos, a partir de los resultados obtenidos de la microdureza de superficie, de la microscopia electrónica de barrido antes y después de la radioterapia, y del análisis bioquímico cualitativo ejecutado a través de la técnica de reflexión total atenuada en la espectroscopia en el infrarrojo por transformada de *Fourier*, se constató que tales efectos ejercidos por la radiación ionizante, a partir del protocolo de irradiación *in vitro* usado en este estudio, fueron deletéreos. Estadísticamente los resultados fueron significativos (valor de $p=0,00$), con respecto al análisis comparativo entre los valores iniciales (antes de la irradiación gamma) y finales (después de la irradiación gamma con una dosis total de 72 Gy, aplicada de forma fraccionada), de la microdureza de superficie. Destacase que estos resultados fueron similares cuando comparados con los encontrados en la literatura,^{12, 14, 17, 27, 28}.

Los resultados obtenidos para cada grupo de estudio están de acuerdo con la minuciosa revisión efectuada de la literatura actual con respecto a las secuelas de la radioterapia en los pacientes con cáncer de cabeza y cuello y sobretodo de las complicaciones inherentes al tratamiento.

El principal objetivo de este estudio fue la evaluación de los efectos ocurridos en los tejidos duros de forma exclusiva, en el esmalte dentario, dentina radicular y el hueso mandibular. La microdureza de superficie, por ser un indicador indirecto del contenido mineral,^{5, 17}, confirmó a través del análisis realizado, la pérdida mineral en cada tejido a través del valor *Knoop*. Esta técnica es usada en diferentes estudios por su precisión y confiabilidad, además de su sencilla ejecución y aplicabilidad,^{14, 26, 27}. Ofrece resultados variables para cada tejido, según los valores referenciales de la literatura,^{12, 13, 14, 15, 17, 26}. Esto permite comparaciones y el establecimiento de parámetros estadísticos que indican indirectamente el grado de comprometimiento en la matriz orgánica.

Los resultados en el presente estudio, para el caso del esmalte dentario fueron de amplia importancia (valor de $p=0,00$) con respecto a la disminución de los valores de microdureza después de la irradiación gamma cuando comparados con

los otros tejidos mineralizados, y divergen con otros resultados obtenidos por otros autores,^{14, 15, 17, 26}. No obstante, en el caso del grupo de dentina radicular se observó una ligera superioridad de los valores obtenidos en la microdureza de superficie, cuando comparados con los otros tejidos de mayor contenido orgánico, tales como el cuerpo mandibular y el trígono retromolar; sin embargo, menores cuando comparados con el esmalte dentario. Por otro lado, el grupo del cuerpo mandibular y la región del trígono retromolar presentaron resultados muy similares con respecto a la diferencia de los valores iniciales y finales de microdureza de superficie. No hubo diferencias estadísticamente significativas ($p=0,97\%$), considerándose los resultados como un efecto similar ejercido por la radiación gamma en ambos tejidos.

El esmalte presentó un mayor valor de la media (promedio) de la diferencia de los valores de microdureza de superficie inicial y final, como representado en la **Figura 45**, lo que demuestra un mayor compromiso de la superficie del esmalte por la irradiación gamma, obteniéndose valores inferiores de la microdureza final cuando comparados con los valores iniciales.

Con respecto a la dentina, se obtuvo un valor de la media menor, cuando comparado con el esmalte y superior, cuando comparado con las regiones del hueso mandibular. Según la literatura reciente,^{14, 17, 26}, la dentina fue el tejido duro de mayor comprometimiento y grado de destrucción por la irradiación gamma, considerándose su composición orgánica e inorgánica, así como el hecho de un mayor contenido del agua cuando comparado al esmalte dentario, además de la acción de las proteasas y metaloproteinasas activadas durante el proceso destructivo y de desnaturalización proteica,⁶. En el presente estudio, la dentina radicular presentó una menor tasa de compromiso cuando comparada con el esmalte. Algunos estudios,^{17, 26}, presentaron resultados similares; sin embargo, con un determinado umbral de dosis empleada (para dosis hasta de 30 Gy hubo una pérdida de dureza mayor que en dosis superiores).

El resultado presentado en este estudio con respecto al esmalte dentario implicará una revisión exacta y minuciosa buscando la realización de estudios posteriores del efecto directo de la radiación gamma. Será necesaria una evaluación

de la modalidad de aplicación de la radioterapia, del efecto sobre el esmalte dentario y la consecuente pérdida de dureza del tejido causada pela desorganización físico-química, que podrá generar un rápido avance en los tejidos subyacentes.

La caries de radiación se caracteriza por el rápido avance y destrucción que esta produce en los dientes de los pacientes sometidos a la radioterapia, y la necesidad de la instauración de un tratamiento de alta complejidad y de difícil manejo, además de las secuelas física y psicológicas que aparecerán en estos pacientes, posiblemente justificados por el hecho de la radioterapia ejercer un efecto deletéreo en el esmalte dentario, como demostrado en este estudio.

La espectroscopia en el infrarrojo por transformada de *Fourier* se ha tornado una herramienta de múltiples aplicaciones en el área médica, específicamente en el análisis de los tejidos cancerígenos, infarto del miocardio, análisis de tumoraciones en la piel (carcinoma espino y basocelular), siendo vista como una alternativa promissora para el diagnóstico de numerosos trastornos que alteran la composición bioquímica de los tejidos sometidos a una evaluación acertada, ^{48, 51}.

El presente estudio evaluó las muestras antes y después de la radioterapia aplicada a través de un estudio bioquímico y cualitativo con el uso de los espectros obtenidos de la técnica de reflexión total atenuada por la espectroscopia en el infrarrojo por transformada de *Fourier*. El análisis realizado en cada grupo de estudio objetivó describir los cambios en el contenido de la matriz orgánica e inorgánica, con la aparición y desaparición de las bandas de absorción en la región espectral del infrarrojo medio, siendo esta región absorbida por la mayoría de los componentes de los tejidos duros de la cavidad bucal, ⁵⁰.

Básicamente, el esmalte dentario está constituido de poli-hidroxiapatita (97%), proteínas (1%), siendo estas la ameloblastina, enamulina, amelogenina y agua (2%)⁹. Las absorciones en la región del infrarrojo del material analizado coinciden para esa composición, ya que fue verificada la presencia del grupo fosfato e hidroxilo, que son los grupos funcionales que constituyen la poli-hidroxiapatita. Los grupos amida, ácido carboxílico, grupos oxigenados y d ecadena carbónica, constituyen las proteínas formadoras de las muestras, y el grupo hidroxilo en 3.425

cm^{-1} está relacionado al hidroxilo que interactúa por uniones débiles de puentes de hidrógeno, con el agua. Siendo así, el análisis de la composición presentada en las **Figura 70** y **Figura 71**, convergen con las informaciones presentadas en la literatura, ^{48, 49, 52}.

En la **Figura 72**, los grupos que fueron absorbidos en la muestra tratada fueron los mismos mostrados en los espectros de esmalte descritos anteriormente en este estudio y en la literatura, ⁵⁰, destacándose dos bandas analizadas a continuación: 1.536 cm^{-1} , cuyo pico de absorción presenta una deformación angular del enlace químico N-H-, correspondiente a la amida II. Por otro lado, la región espectral en 1.000 cm^{-1} , presenta la absorción del grupo fosfato PO_4^{3-} (matriz inorgánica).

Esas bandas muestran que hubo una alteración bioquímica del material en función del proceso de irradiación. La banda referente a la amida II permanece más evidente y la que se refiere a la poli-hidroxiapatita se torna más intensa, sugiriendo que los otros componentes, específicamente de la matriz orgánica, pueden haber sido degradadas en una mayor proporción, lo que podría en este caso evidenciar la presencia de la poli-hidroxiapatita.

Los resultados en el caso de las muestras control en la dentina radicular coincidieron con la composición inherente al tejido, sabiendo que es constituida de 18% de material orgánico (colágeno tipo I, lípidos, citratos glicoproteínas, e proteoglicanos), 12% de agua y 70 % de material inorgánico (poli-hidroxiapatita y fosfatos de calcio). El análisis espectral evidenció la parte orgánica del material mostrando las funciones amida (I, II, III) característica de la presencia del colágeno tipo I, la base hidrocarbonada de la cadena orgánica que contienen esos grupos, como encontrado en otros estudios, ^{48, 51}.

En la **Figura 76**, que muestra la comparación entre los espectros de las muestras control (**D81REF**, **D52REF**) y de la muestra sometida a la irradiación gamma con una dosis total de 72 Gy (**D74 1708**), y se observa alteración del espectro de la muestra irradiada cuando comparado con los espectros referenciáis. En esta figura es posible notar la desaparición de las bandas referentes a la

presencia amida (I, II y III) y de la poli-hidroxiapatita y la intensificación de las bandas en 2.923 cm^{-1} y 2.852 cm^{-1} . La banda en 1.734 cm^{-1} es relativa a la presencia de peróxido. Ese comportamiento evidencia la degradación del material cuando expuesto a la radiación ionizante, donde se manifiesta el deterioro del colágeno y de la poli-hidroxiapatita. La presencia de los peróxidos evidencia la formación de los productos oxigenados altamente reactivos y que son los responsables directos por la degradación, ^{48, 51}.

Los análisis representan una evidente alteración composicional en las muestras de dentina radicular sometidas a la irradiación, constatándose posteriormente diferencias que deben ser destacadas con la aparición y desaparición de las bandas en 1.450 cm^{-1} y 1.336 cm^{-1} . Esto sugiere que el proceso de irradiación rompe el grupo carboxílico de las amidas que constituyen la parte orgánica de las muestras. De esta forma, queda aclarado el motivo de la desaparición de las bandas y la disminución de la intensidad de los picos de absorción de las muestras irradiadas cuando comparadas con las muestras control, lo que demuestra claramente la relevancia de la técnica, ya que evidencia la degradación del material orgánico y la desorganización del contenido mineral en la dentina, incluyéndose la pérdida de ese contenido, correlacionando esos resultados con los obtenidos en el análisis de microdureza de superficie y la evaluación morfológica a través de la microscopía electrónica de barrido.

Las muestras de hueso mandibular, de forma general, mostraron las mismas bandas de absorción en la región del infrarrojo verificadas en la dentina. Resultados diferentes fueron encontrados en otros estudios, ^{48, 52}. El cuerpo mandibular es constituido por 65 % de material inorgánico (poli-hidroxiapatita y fosfatos de calcio), 25% de material orgánico (fibras de colágeno tipo I) y 10% de agua, manteniendo una similitud composicional con la dentina. No obstante, la presencia de las bandas en 1.445 cm^{-1} , referente al grupo O-H- del ácido carboxílico, 1.336 cm^{-1} referente al grupo $-\text{CO}$ del ácido carboxílico y 1.239 cm^{-1} referente al grupo $-\text{NH}$ (amida III) son débiles y menos evidentes que en la dentina. Resultados similares fueron encontrados en estudios recientes, ^{48, 51}.

Un análisis profundo del tercer gráfico correspondiente al cuerpo mandibular, evidencia la completa alteración del espectro de la muestra irradiada cuando comparado con los espectros de referencia, visualizándose la desaparición de las bandas en 3.291 cm^{-1} , 1.643 cm^{-1} , 1.553 cm^{-1} , 1.413 cm^{-1} , 1.012 cm^{-1} y 865 cm^{-1} . Surgieron nuevas bandas en 2.923 cm^{-1} , 2.852 cm^{-1} , referentes a la cadena hidrocarbonada de los constituyentes orgánicos. En la región espectral 1.734 cm^{-1} , hace referencia a la presencia de peróxido, en 1.445 cm^{-1} , relativo al grupo $-\text{OH}$ del ácido carboxílico, en 1.336 cm^{-1} referente al grupo $-\text{CO}$ del ácido carboxílico y en 715 cm^{-1} , debido a la deformación angular fuera del plano del grupo $-\text{OH}$ unido por puentes de hidrógeno de material fosfatado. Toda esa alteración evidencia la degradación, no sólo de la parte orgánica que hace parte de la muestra, sino también las desagregaciones de la parte inorgánica, con una marcada acción de oxidación provocada por la presencia de sustancias altamente reactivas y oxidantes como el peróxido. Con respecto a la comparación de los espectros de las muestras control y de la muestra irradiada, en la **Figura 82**, se observa una disminución de la intensidad en las bandas en 3.291 cm^{-1} y 1.012 cm^{-1} referentes respectivamente al grupo $-\text{OH}$ presente en las sustancias que interactúan por puentes de hidrógeno al grupo fosfato de la hidroxiapatita, además del surgimiento de las nuevas bandas en 2.917 cm^{-1} y 2.851 cm^{-1} referentes a la cadena hidrocarbonada de los materiales orgánico y en 715 cm^{-1} , debido a la deformación angular fuera del plano del grupo $-\text{OH}$, unido por puentes de hidrógeno del material fosfatado. En ese caso el proceso de irradiación actuó de forma a degradar la materia orgánica e inorgánica de la muestra.

Por otro lado, con relación al análisis espectral de las muestras del cuerpo mandibular, en la **Figura 88**, el espectro de los gráficos del material irradiado es semejante al de los materiales no irradiados. No obstante, se evidencia el surgimiento de las bandas en 2.917 cm^{-1} y 2.851 cm^{-1} referentes a la cadena hidrocarbonada de los materiales orgánicos, sugiriéndose que en ese material hubo una pequeña modificación debido al proceso de irradiación.

Al ser analizados cada espectro correspondiente a la región del triángulo retromolar, se debe considerar lo siguiente: la región del triángulo retromolar presenta una composición semejante al del cuerpo mandibular, ⁴⁹; sin embargo, con un porcentaje menor de material inorgánico (poli-hidroxiapatita y fosfatos de calcio) y un mayor contenido de material orgánico (fibras de colágeno tipo I) y con una cantidad de agua similar. Los resultados presentados por esos espectros están de acuerdo con la literatura, ^{49, 50}.

Los análisis ejecutados en el transcurso del presente estudio evaluaron las consecuencias de la aplicación de una determinada dosis de radiación ionizante sobre las muestras previamente padronizadas de los tejidos duros de la cavidad bucal de forma aislada y sin los factores locales contribuyentes a la aparición de los efectos indeseables, inherentes y ajenos a la radiación gamma.

Se determinó la acción directa de esta a través del análisis físico del contenido mineral, composicional por medio de los espectros procedentes de la transformada de Fourier y completado, con los análisis de los cambios morfológicos de estos tejidos a través de la microscopía electrónica de barrido. Cada análisis se mantuvo interrelacionado con los resultados obtenidos, sea en las variaciones de contenido mineral o en la disminución de los compuestos orgánicos propios de la matriz orgánica de cada tejido analizado. Por otro lado, la microscopía electrónica de barrido confirmó los resultados encontrados cuantitativa y cualitativamente en el análisis de microdureza de superficie y en el FTIR, respectivamente.

Las transformaciones de carácter bioquímico y modificaciones ultra-estructurales, además de una mayor especificidad de los resultados con respecto a la fisiopatología desencadenada por la radiación gamma y la interacción con los tejidos duros, permanece no aclarada aún. De esta forma, serán necesarios mayores estudios con técnicas innovadoras tales como las técnicas de biología molecular y afines, del tipo cuantitativa para determinarse los datos exactos sobre la cantidad de progreso de los efectos deletéreos de la radiación gamma en los tejidos duros de la cavidad bucal, específicamente en la repercusión y el posible comprometimiento de los tejidos blandos y estructuras glandulares circunscritas.

Se comprobó que la radiación gamma per se produce efectos de alta relevancia en la composición y estructura de los tejidos analizados, e que su efecto de forma aislada, conforme los resultados presentados en este estudio deberán ser considerados por el oncólogo, radioterapeuta, y el equipo multidisciplinar encargado del cuidado del paciente oncológico.

CAPÍTULO X
CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en el presente estudio, se obtuvieron las siguientes conclusiones, las cuales destacan la importancia de realizar de forma aislada, en este caso in vitro, el análisis del efecto directo de la irradiación gamma en los tejidos de la cavidad bucal:

1. La radiación gamma ejerció un efecto deletéreo en los tejidos duros de la cavidad bucal, demostrado in vitro y constatado a través de la pérdida de microdureza de superficie, alteraciones morfológicas evidenciadas por la microscopía electrónica y en las alteraciones obtenidas de la composición bioquímica, tanto en la matriz orgánica como en la orgánica detectadas por la técnica de reflexión total atenuada por medio de la espectroscopia en el infrarrojo por transformada de *Fourier*.
2. Los análisis por medio de la microscopía electrónica de barrido evidenciaron los cambios morfológicos después de la irradiación gamma cuando las imágenes iniciales fueron comparadas con las finales, lo que determinó el grado de comprometimiento con respecto a la superficie de la muestra analizada, a través de grietas, líneas de fractura y quiebres en el tejido duro.
3. La radiación ionizante afectó en un grado mayor al esmalte dentario con respecto a la pérdida de la microdureza de superficie de este tejido demostrado estadísticamente ($p=0,00$), tanto intragrupo cuanto intergrupar.
4. Los tejidos duros de mayor contenido orgánico tales como la dentina y las regiones del hueso mandibular analizadas, también presentaron diferencias significativas entre los valores de microdureza inicial y final obtenidas, intra e intergrupar como en el caso de la dentina. Para el caso del cuerpo mandibular y la región del trígono retromolar sólo presentaron diferencias significativas intragrupo, y referente al esmalte y la dentina.

5. A partir de los resultados se establece una conclusión final y general del presente estudio, destacando el efecto directo de la radiación ionizante, en el caso, la irradiación como factor determinante y contribuyente a la pérdida de las propiedades físicas, composicionales y morfológicas de los tejidos duros sometidos a la radioterapia convencional, a partir de un modelo in vitro, de los pacientes afectados por cáncer de cabeza y cuello , lo que favorece, claramente, la aparición de los efectos indeseables de esta modalidad terapéutica, independiente de los factores contribuyentes locales o sistémicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] INCA, "Instituto Nacional do Cancer no Brasil," 2015. [Online]. Available: <http://www.inca.gov.br/wcm/dncc/2015/dados-apresentados.pdf>. [Acesso em 17 Novembro 2016].
- [2] INCA, "Instituto Nacional do Cancer José Alencar Gomes da Silva," 2014. [Online]. Available: http://www.saude.sp.gov.br/resources/ses/perfil/gestor/homepage/outros-destaques/estimativa-de-incidencia-de-cancer-2014/estimativa_cancer_24042014.pdf. [Acesso em 17 Dezembro 2016].
- [3] F. Carini, C. Bucalo, V. Saggese, D. Monai e G. Porcaro, "Case control study to assess the possibility of decrease the risk of osteoradionecrosis in relation to the dose of radiation absorbed by the jaw," *Annali di stomatologia*, vol. 3, p. 3, 2012.
- [4] N. Grimaldi, V. Sarmento, L. Provedel, D. Almeida e S. Cunha, "Dental care in prevention and treatment of osteoradionecrosis: literature review," *Rev Bras Cancerol*, vol. 51, pp. 319-324, 2005.
- [5] C. B. Zamataro, A. A. P. Benetti, C. Zezell e D. Maria, "Influence of Er, Cr: YSGG Laser on CaF₂-like products formation because of professional acidulated fluoride or to domestic dentifrice application," *Microscopy research and technique*, vol. 76, n° 7, pp. 704-713, 2013.
- [6] J. McGuire, A. Mousa, B. Zhang, L. Todoki, N. Huffman, K. Chandrababu, J. Moradian-Oldak, A. Keightley, Y. Wang e M. Walker, "Extracts of irradiated mature human tooth crowns contain MMP-20 protein and activity," *Journal of dentistry*, vol. 42, n° 5, pp. 626-635, 2014.
- [7] S. B. Kadam, S. K. Shyama e V. G. Almeida, "Evaluation of the in vivo genotoxic effects of gamma radiation on the peripheral blood leukocytes of head and neck cancer patients undergoing radiotherapy," *Mutation*

Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, vol. 752, nº 1, pp. 42-46, 2013.

- [8] J. Mellberg, "Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ.," *Journal of dental research*, vol. 71, 1992.
- [9] F. Arbabzadeh, E. Birang, R. Nazem, M. Abbasian, F. Koosha e R. Birang, "A Comparative Study on Micro Hardness and Structural Changes of Dentin Floor Cavity Prepared by Er: YAG Laser Irradiation and Mechanical Bur," *Journal of Dentistry*, vol. 14, nº 2, p. 73, 2013.
- [10] T. Koulourides, "Dynamics of tooth surface-oral fluid equilibrium," *Adv Oral Bio*, vol. 2, pp. 149-171, 1966.
- [11] E. Kitajima e B. Leite, "Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura," *Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*, vol. 37, nº 2, 1997.
- [12] J. De Dios Teruel, A. Alcolea, A. Hernández, A. Ruiz e J. Ortiz, "Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth," *Archives of Oral Biology*, vol. 60, nº 5, pp. 768-775, 2015.
- [13] A. A. Kunin, A. Y. Evdokimova e N. S. Moiseeva, "Age-related differences of tooth enamel morphochemistry in health and dental caries," *EPMA Journal*, vol. 6, p. 1, 2015.
- [14] R. Reed, C. Xu, Y. Liu, J. Gorski, Y. Wang e M. Walker, "Radiotherapy effect on nano-mechanical properties and chemical composition of enamel and dentine," *Archives of Oral Biology*, vol. 60, nº 5, pp. 690-697, 2015.
- [15] J. Arsecularatne e M. Hoffman, "An in vitro study of the microstructure, composition and nanoindentation mechanical properties of remineralizing human dental enamel," *Journal of Physics D: Applied Physics*, vol. 47, pp. 315-403, 2014.

- [16] A. Veis, "Mineral-matrix interactions in bone and dentin," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 8, nº S2, pp. S493-S497, 1993.
- [17] L. M. N. Gonçalves, R. G. Palma-Dibb, F. W. G. Paula-Silva, H. F. d. Oliveira, P. Nelson-Filho, L. A. B. d. Silva e A. M. d. Queiroza, "Radiation therapy alters microhardness and microstructure of enamel and dentin of permanent human teeth," *Journal of Dentistry*, vol. 42, nº 8, pp. 986-992, 2014.
- [18] K. Chun, H. Choi e J. Lee, "Comparison of mechanical property and role between enamel and dentin in the human teeth," *Journal of Dental Biomechanics*, vol. 5, pp. 1-7, 2014.
- [19] M. N. Veloso, "Avaliação in vitro dos efeitos da radiação ionizante em tecido ósseo bovino por espectroscopia ATR-FTIR e análise dinâmico-mecânica," Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- [20] C. Luciano, "Densitometria óssea em mandíbula de suínos submetidos a enxerto ósseo autógeno, homogêneo e heterogêneo," UNESP, Araçatuba, 2006.
- [21] B. Tymczynna, M. R. Tatara, W. Krupski, M. Tymczynna-Sobotka, I. Luszczewska-Sierakowska e T. Bachanek, "Relationships between biochemical bone metabolism indices and morphometric, densitometric and mechanical properties of mandible in 6-month-old pigs," *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, vol. 19, nº 3, 2012.
- [22] Y. Li, J. Xu, L. Mao, Y. Liu, R. Gao, Z. Zheng, W. Chen, A. Le, S. Shi e S. Wang, "Allogeneic mesenchymal stem cell therapy for bisphosphonate-related jaw osteonecrosis in Swine," *Stem cells and development*, vol. 22, nº 14, pp. 2047-2056, 2013.
- [23] T. Brosh, D. Rozitsky, S. Geron e R. Pilo, "Tensile Mechanical Properties of Swine Cortical Mandibular Bone," *PloS one*, vol. 9, nº 12, pp. 113-229, 2014.

- [24] H.-S. Lin, Y.-J. Chen, J.-D. Li, T.-W. Lu, H.-H. Chang e C.-C. Hu, "Measurement of mandibular growth using cone-beam computed tomography: a miniature pig model study," *PloS one*, vol. 9, n° 5, pp. 1-10, 2014.
- [25] A. Pearce, R. Richards, S. Milz, E. Schneider e S. Pearce, "Animal models for implant biomaterial research in bone: a review," *Eur Cell Mate*, vol. 13, n° 1, pp. 1-10, 2007.
- [26] H. Lieshout e C. Bots, "The effect of radiotherapy on dental hard tissue—a systematic review," *Clinical oral investigations*, vol. 18, n° 1, pp. 17-24, 2014.
- [27] P. Qing, S. Huang, S. Gao, L. Qian e H. Yu, "Effect of gamma irradiation on the wear behaviour of human tooth enamel," *Scientific reports*, vol. 5, 2015.
- [28] J. Deng, L. Jackson, J. B. Epstein, C. A. Migliorati e B. A. Murphy, "Dental demineralization and caries in patients with head and neck cancer," *Oral oncology*, vol. 51, n° 9, pp. 824-831, 2015.
- [29] A. Vissink, J. Jansma, F. Spijkervet, F. Burlage e R. Coppes, "Oral sequelae of head and neck radiotherapy," *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, vol. 14, n° 3, pp. 199-212, 2003.
- [30] N. El-Faramawy, R. Ameen, K. El-Haddad e M. El-Zainy, "Effects of gamma radiation on hard dental tissues of albino rats: investigation by light microscopy," *Radiation and environmental biophysics*, vol. 52, n° 3, pp. 375-383, 2013.
- [31] B. D. Loucas, M. Durante, S. M. Bailey e M. N. Cornforth, "Chromosome damage in human cells by γ rays, α particles and heavy ions: track interactions in basic dose-response relationships," *Radiation research*, vol. 179, n° 1, pp. 9-20, 2012.

- [32] T. Kawata, H. Ito, K. George, H. Wu e F. A. Cucinotta, "Chromosome aberrations induced by high-LET radiations," *Biological Sciences in Space*, vol. 18, nº 4, pp. 216-223, 2004.
- [33] L. TAUHATA, P. SALATI, R. DI PRINZIO e A. DI PRINZIO, "Radioproteção e Dosimetria: Fundamentos, Instituto de Radioproteção e Dosimetria," *Comissão Nacional de Energia Nuclear*, nº 5, 2003.
- [34] A. Wojcik, E. Gregoire, I. Hayata, L. Roy, S. Sommer, G. Stephan e P. Voisin, "Cytogenetic damage in lymphocytes for the purpose of dose reconstruction: a review of three recent radiation accidents," *Cytogenetic and genome research*, vol. 104, nº 1-4, pp. 200-205, 2004.
- [35] T. Hadley, C. Song, L. Wells, J. Lehnhardt, M. W. Rogers, J. Anderson, M. Terry, B. Novy e T. Lo, "Does hyperbaric oxygen therapy have the potential to improve salivary gland function in irradiated head and neck cancer patients?," *Medical gas research*, vol. 3, nº 1, pp. 1-5, 2013.
- [36] A. Gevorgyan, K. Wong, I. Poon, N. Blanas, D. J. Enepekides e K. M. Higgins, "Osteoradionecrosis of the mandible: a case series at a single institutio," *Journal of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, vol. 42, nº 1, pp. 1-7, 2013.
- [37] M. Niewald, J. Fleckenstein, K. Mang, H. Holtmann, W. J. Spitzer e C. Rube, "Dental status, dental rehabilitation procedures, demographic and oncological data as potential risk factors for infected osteoradionecrosis of the lower jaw after radiotherapy for oral neoplasms: a retrospective evaluation," *Radiation Oncology*, vol. 8, nº 1, 2013.
- [38] T. Reuther, T. Schuster, U. Mende e A. Kübler, "Osteoradionecrosis of the jaws as a side effect of radiotherapy of head and neck tumour patients—a report of a thirty year retrospective review," *International journal of oral and maxillofacial surgery*, vol. 32, nº 3, pp. 289-295, 2003.

- [39] J. J. Freiberger, D. S. Yoo, G. de Lisle Dear, T. A. McGraw, G. H. Blakey, R. P. Burgos, K. Kraft, J. W. Nelson, R. E. Moon e C. A. Piantadosi, "Multimodality surgical and hyperbaric management of mandibular osteoradionecrosis," *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, vol. 75, n° 3, pp. 712-724, 2009.
- [40] I. J. Lee, W. S. Koom, C. G. Lee, Y. B. Kim, S. W. Yoo, K. C. Keum, G. E. Kim, E. C. Choi e I. H. Cha, "Risk factors and dose--effect relationship for mandibular osteoradionecrosis in oral and oropharyngeal cancer patients," *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, vol. 75, n° 4, pp. 1084-1091, 2009.
- [41] J. V. Bagan, Y. Jiménez, S. Hernández, J. Murillo, J. M. Díaz, R. Poveda, E. Carbonell, J. M. Sanchis, C. Gavaldá e C. Scully, "Osteonecrosis of the jaws by intravenous bisphosphonates and osteoradionecrosis: a comparative study," *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, vol. 14, n° 12, pp. e616-9, 2009.
- [42] M. Tamplen, K. Trapp, I. Nishimura, B. Armin, M. Steinberg, J. Beumer, E. Abemayor e V. Nabili, "Standardized analysis of mandibular osteoradionecrosis in a rat model," *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*, 2011.
- [43] C. Madrid, M. Abarca e K. Bouferrache, "Osteoradionecrosis: an update," *Oral oncology*, vol. 46, n° 6, pp. 471-474, 2010.
- [44] F. Jegoux, O. Malard, E. Goyenvalle, E. Aguado e G. Daculsi, "Radiation effects on bone healing and reconstruction: interpretation of the literature," *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, vol. 109, n° 2, pp. 173-184, 2010.
- [45] Q. Zhuang, Z. Zhang, H. Fu e J. H. Y. He, "Does radiation-induced fibrosis have an important role in pathophysiology of the osteoradionecrosis of jaw?," *Medical hypotheses*, vol. 77, n° 1, pp. 63-65, 2011.

- [46] M. M. Curi, C. L. Cardoso, H. G. de Lima, L. P. Kowalski e M. D. Martins, "Histopathologic and Histomorphometric Analysis of Irradiation Injury in Bone and the Surrounding Soft Tissues of the Jaws," *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, vol. 74, nº 1, pp. 190-199, 2016.
- [47] M. M. Curi, M. O. dos Santos, O. Feher, J. C. M. Faria, M. L. Rodrigues e L. P. Kowalski, "Management of extensive osteoradionecrosis of the mandible with radical resection and immediate microvascular reconstruction," *Journal of oral and maxillofacial surgery*, vol. 65, nº 3, pp. 434-438, 2007.
- [48] D. M. Zezell, C. Benetti, M. N. Veloso, P. A. Castro e P. A. Ana, "FTIR Spectroscopy Revealing the Effects of Laser and Ionizing Radiation on Biological Hard Tissues," *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 26, nº 12, pp. 2571-2582, 2015.
- [49] M. Figueiredo, A. Martins e J. Gamelas, "Characterization of bone and bone-based graft materials using FTIR spectroscopy," INTECH Open Access Publisher, 2012.
- [50] R. M. Silverstein, F. X. Webster e D. J. Kiemle, *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, Rio de Janeiro : Biblioteca do CPqRR, 2007.
- [51] D. Magne, P. Weiss, J.-M. Bouler, O. Laboux e G. Daculsi, "Study of the maturation of the organic (type I collagen) and mineral (nonstoichiometric apatite) constituents of a calcified tissue (dentin) as a function of location: a Fourier transform infrared microspectroscopic investigation," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 16, nº 4, pp. 750-757, 2001.
- [52] Y. Sa, S. Liang, X. Ma, S. Lu, Z. Wang, T. Jiang e Y. Wang, "Compositional, structural and mechanical comparisons of normal enamel and hypomaturation enamel," *Acta biomaterialia*, vol. 10, nº 12, pp. 5169-5177, 2014.
- [53] A. C. B. de Cara, D. M. Zezell, P. A. Ana, A. M. Deana, M. M. Amaral, N. D. Vieira Jr e A. Z. de Freitas, "Comparative analysis of optical coherence

tomography signal and microhardness for demineralization evaluation of human tooth enamel,” em *SPIE Photonics Europe*, International Society for Optics and Photonics , 2012, pp. 84271H-84271H.

**More
Books!** 



yes

I want morebooks!

Buy your books fast and straightforward online - at one of the world's fastest growing online book stores! Environmentally sound due to Print-on-Demand technologies.

Buy your books online at

www.get-morebooks.com

¡Compre sus libros rápido y directo en internet, en una de las librerías en línea con mayor crecimiento en el mundo! Producción que protege el medio ambiente a través de las tecnologías de impresión bajo demanda.

Compre sus libros online en

www.morebooks.es

OmniScriptum Marketing DEU GmbH
Bahnhofstr. 28
D - 66111 Saarbrücken
Telefax: +49 681 93 81 567-9

info@omniscrptum.com
www.omniscrptum.com

OMNI Scriptum



