



**Eveline Freitas Soares**

**“INFLUÊNCIA DA RADIOTERAPIA E DO PRÉ-TRATAMENTO  
DENTINÁRIO COM DOXICICLINA NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO A  
DENTINA UTILIZANDO DIFERENTES SISTEMAS ADESIVOS”**

**PIRACICABA - SP  
2013**





**UNICAMP UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

**EVELINE FREITAS SOARES**

**“INFLUÊNCIA DA RADIOTERAPIA E DO PRÉ-TRATAMENTO  
DENTINÁRIO COM DOXICICLINA NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO A  
DENTINA UTILIZANDO DIFERENTES SISTEMAS ADESIVOS”**

**Orientador: Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho**

**Co-orientador: Prof. Dr. Lucas Zago Naves**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
APRESENTADA À FACULDADE DE  
ODONTOLOGIA DE PIRACICABA, DA  
UNICAMP PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO  
DE MESTRA EM MATERIAIS  
DENTÁRIOS.

**Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação  
defendida pela aluna Eveline Freitas Soares e orientada pelo  
Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho e pelo Prof. Dr. Lucas  
Zago Naves.**

**Assinatura do Orientador**

---

**PIRACICABA - SP  
2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR  
JOSIDELMA F COSTA DE SOUZA – CRB8/5894 - BIBLIOTECA DA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

So11i Soares, Eveline Freitas, 1987-  
Influência da radioterapia e do pré-tratamento dentinário com doxiciclina na resistência de união a dentina utilizando diferentes sistemas adesivos / Eveline Freitas Soares. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Lourenço Correr Sobrinho.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Radiação. 2. Antibióticos. 3. Adesão. I. Correr Sobrinho, Lourenço. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

**Título em Inglês:** Influence of radiation and dentin pretreatment with doxycycline on dentin bond strength using different adhesive systems

**Palavras-chave em Inglês:**

Radiation

Antibiotic

Adhesion

**Área de concentração:** Materiais Dentários

**Titulação:** Mestra em Materiais Dentários

**Banca examinadora:**

Lourenço Correr Sobrinho [Orientador]

Mário Alexandre Coelho Sinhoreti

Renato Herman Sundfeld

**Data da defesa:** 20-02-2013

**Programa de Pós-Graduação:** Materiais Dentários



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 20 de Fevereiro de 2013, considerou a candidata EVELINE FREITAS SOARES aprovada.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Lourenço Correr Sobrinho", written over a horizontal line.

Prof. Dr. LOURENÇO CORRER SOBRINHO

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Renato Herman Sundfeld", written over a horizontal line.

Prof. Dr. RENATO HERMAN SUNDFELD

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Mario Alexandre Coelho Sinhoretí", written over a horizontal line.

Prof. Dr. MARIO ALEXANDRE COELHO SINHORETI

*Dedico este trabalho:*

A quem sonha em ser melhor a cada amanhecer e faz disso sua Luz.

**Agradeço a Deus por me trazer percalços e assim me fazer forte;  
Mas também por me abençoar tão grandemente, através de cada  
pessoa colocada em meu caminho, com todo o carinho, preocupação,  
amizade, desempenho e tempo encaminhados.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço muito aos meus pais **Sidnei e Nilse Soares** por simplesmente acreditarem e assim fazerem meu lar e minha vida completo.

Agradeço aos meus mais que queridos avós **Avelino e Isolina Soares**, e **Clementino Freitas** por todo o carinho do começo ao fim. E a minha vó **Maria José** pelos melhores Domingos da minha vida.

A todo o apoio e incentivo dos meus familiares durante esses anos.

À minha família conquistada **Guilherme, Henrique, Marianne, Leilani, Louise e Luiza** que de moleca me conduziram ao som de risos e gargalhadas incansáveis sempre ao meu lado mesmo de tão longe.

E a quem me conquistou: **André Luis Pinho**.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho** e co-orientador **Prof. Dr. Lucas Zago Naves** pelo tempo e trabalho despendidos e pela nova amizade.

Aos meus **amigos de Materiais Dentários** por fazerem da nossa área a minha preferida.

Ao Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas, **Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa**.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, nas pessoas do Diretor, **Prof. Dr. José Jacks Junior** e Diretor Associado **Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia**.

Ao órgão de fomento à pesquisa **CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior)**, pelo apoio financeiro através da concessão da bolsa de estudo.

**À Coordenadoria de Pós-Graduação e à Coordenadoria do Programa de Pós-Graduação em Materiais Dentários**, pela dedicação ao programa de Pós-Graduação em nível de Mestrado.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP:

Ao **Prof. Dr. *Simonides Consani***, pela atenção, paciência, serenidade e sabedoria compartilhadas.

Ao **Prof. Dr. *Mario Fernando de Goes***, pela seriedade na transmissão dos conhecimentos.

Ao **Prof. Dr. *Mário Alexandre Coelho Sinhoreti***, pela disponibilidade em ajudar e compartilhar os conhecimentos.

A **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. *Regina Maria Puppim Rontani***, pela alegria, disposição em ensinar.

Ao **Prof. Dr. *Marcelo Gianinni***, pelo exemplo de pesquisador e professor.

Ao **Prof. Dr. *Américo Bortolazzo Correr***, por estar sempre disposto a ajudar e pela análise estatística deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. *Rafael Xediek Consani***, pela contribuição durante as aulas do curso de mestrado e doutorado.

Ao **Prof. Dr. *Luis Roberto Marcondes Martins***, pela experiência compartilhada.

A **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Miori Pascon** pela disponibilidade de atenção e por ser compreensível sempre que preciso.

A aluna de doutorado **Ana Rosa Costa Correr**, pelo auxílio durante a realização do experimento.

Ao aluno de doutorado **João Paulo Lyra e Silva**, pelo auxílio durante a realização do experimento.

Aos colegas e funcionários (**Engenheiro Marcos Blanco Cangiani e Técnica Selma Aparecida Barbosa Segalla**) do Programa de Pós-Graduação em Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, com quem tive contato durante esse período de formação.

Agradecemos o **Prof. Dr. E.W. Kitajima, Prof. Dr. F.A.O. Tanaka** e R.B. Salaroli do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica, NAPME/ESALQ/USP – Brasil, pelo suporte e uso da Lupa estereoscópica para análise do padrão de fratura.

Ao **Hospital dos Fornecedores de Cana** (Piracicaba, SP), em especial ao Centro de Oncologia, na pessoa do médico radiologista responsável **Dr. Sérgio Carlos Barros Esteves**, à supervisora de radioproteção **Fernanda L.M. Souza** e as técnicas **Eliete Aparecida C. de Lima, Vilma de F. Geraldine** e **Jussara Aparecida Alexandre**.

A *todas* as demais pessoas que foram importantes para a execução do trabalho.

*“Mesmo que tenhas ouro e pérolas, o mais precioso são os lábios com  
conhecimento.”*

*Pr 20,15*

## RESUMO

O propósito deste estudo *in vitro* foi a avaliar a ação da radiação na interface de união dente humano-compósito fotoativado, através do ensaio de resistência de união à microtração ( $\mu$ TBS) variando: dois sistemas adesivos, com ou sem aplicação da Doxiciclina, com ou sem radiação e análise do padrão de fratura. A superfície oclusal de sessenta terceiros molares humanos foi desgastada com lixa de carbeto de silício de granulação 600. Os dentes foram divididos em 3 grupos (n=20) de acordo com o sistema adesivo (Adper Scotchbond MP e Clearfil SE Bond), com ou sem aplicação da Doxiciclina e submetidos ou não a radiação com 60 Gy, fracionados em doses diárias de 2Gy durante 5 dias por semana, num período de 6 semanas. Grupo Controle (n=20) não recebeu radioterapia; Grupo IrrRe (n=20) submetido a radioterapia antes de ser restaurado; e, Grupo Relrr (n=20) submetido a radioterapia após ser restaurado. Um bloco de resina Z250 (3M ESPE) com 5 mm de espessura foi construído sobre a dentina com os sistemas adesivos, preparados de acordo com as recomendações do fabricante e cada camada de 2 mm de espessura foi fotoativada por 40 segundos com o aparelho UltraLume 5 (Ultradent). Após 24 horas à 37<sup>o</sup> C, as amostras foram seccionadas perpendicularmente à área de união, para obter palitos com área de secção transversal de 1mm<sup>2</sup>. Em seguida, os palitos foram submetidos ao ensaio de resistência de união à microtração em máquina de ensaio universal (EZ-Test) a velocidade de 0,5 mm/minuto. A análise do modo de falha foi observada em lupa estereoscópica (Leica Mz 9.5). Os dados foram submetidos à Análise de Variância com 3 fatores e ao teste de Tukey (5%) e mostram que nenhuma diferença

estatística foi observada entre os sistemas adesivos. O uso do antimicrobiano Doxiciclina reduziu significativamente a resistência de união, quaisquer que fossem as demais condições. A radiação das amostras antes do procedimento da restauração em compósito reduziu significativamente a resistência de união à microtração. O modo de falha coesiva na dentina foi predominante nas amostras submetidas à radiação antes do procedimento restaurador, e mistas nas amostras restauradas e submetidas à radiação. Falhas mistas e adesivas foram observadas no grupo controle.

Palavras-chave: sistemas adesivos, doxiciclina, dentina, radiação, resistência de união.

## **ABSTRACT**

The purpose of this *in vitro* study is to evaluate radiation effect on human interface bonding to dentin- light cured composite, using microtensile bond strength test ( $\mu$ TBS) ranging: two adhesive systems, with or without Doxycycline application; with or without radiation submission, and the analysis of mode of failure. Flat occlusal dentin of sixty third human molars were exposed using wet ground with 600-grit SiC paper. The teeth were distributed into 3 groups (n=20) according to adhesive systems (Adper Scotchbond MP and Clearfil SE Bond), with or without application of Doxycycline and submitted or not to 60 Gy radiation, in 2 Gy daily fractionated doses during 5 days per week in a total of 6 weeks. Control group (n=20) did not go through radiotherapy; Group IrrRe (n=20), submitted to radiotherapy before the restoration procedure; Group Relrr (n=20) submitted to (IrrRe; n=20) submitted to radiotherapy after the restoration procedure. A block of 5mm thickness resin composite Z250 (3M ESPE) was constructed on dentin using adhesive systems according to manufacturer's instructions and each 2mm thickness was light cured for 40 seconds using a light curing unit UltraLume 5 (Ultradent). After 24 h storage at 37°C in deionized water, the specimens were sectioned perpendicularly to bond area to obtain beams in a sectional area of 1 mm<sup>2</sup>. After that, the beams were submitted to microtensile bond strength ( $\mu$ TBS) test in a universal test machine (EZ-Test) at a crosshead speed of 0.5mm/min. The mode of failure analyses was observed under optical microscopy (Leica Mz 9.5). Data were submitted to two-way ANOVA, Tukey's test (p<0.05) and showed that no statistical difference was observed between the adhesive systems. The use of

antimicrobial Doxycycline decreased significantly bond strength, whatever other conditions. The specimens submitted to radiation before restoration procedure decreased significantly microtensile bond strength. Dentin cohesive failure mode was predominantly for specimens submitted to radiation before restoration procedure, and mixed failure mode for specimens restored then submitted to radiation. Mixed and adhesive failures were observed in control group.

Key words: adhesive systems, doxycycline, dentin, radiation, bond strength.

## SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	01
2- REVISÃO DA LITERATURA	06
3 - PROPOSIÇÃO	36
4 - MATERIAL E MÉTODOS	37
5 - RESULTADOS	55
6 - DISCUSSÃO	61
7 - CONCLUSÃO	68
8- REFERÊNCIAS	69
9 – ANEXO	81

## 1 – INTRODUÇÃO

O sucesso clínico dos procedimentos restauradores com compósito está diretamente relacionado à união e ao vedamento marginal da interface dente-restauração. A efetividade está relacionada à adequada formação da camada híbrida entre o sistema adesivo e o esmalte ou a dentina condicionada (Hahn *et al.*, 2000). Na dentina, o condicionamento da superfície para adesão é o passo mais crítico (Pashley *et al.*, 1984) devido à composição dessa estrutura. Estes fatores interferem na permeabilidade da dentina frente à penetração dos monômeros e as diferenças de mineralização e sensibilidade (Van Meerbeek *et al.*, 2010).

Remanescentes da contaminação bacteriana nem sempre são removidos no preparo cavitário e no condicionamento ácido para formação da “*smear layer*”, podendo promover sensibilidade pós-operatória, danos pulpares, cárie recorrente e interferir na qualidade de união do sistema adesivo e o material restaurador (Bocangel *et al.*, 2000). Com a finalidade de realizar a limpeza e reduzir o número de microrganismos, recomenda-se tratar a superfície a ser restaurada com substâncias consideradas antimicrobianas, como o flúor (Bocangel *et al.*, 2000, Soares *et al.*, 2011), digluconato de clorexidina (Silva *et al.*, 1997; Soares *et al.*, 2011), hipoclorito de sódio (Bocangel *et al.*, 2000) e cloridrato de doxiciclina (Rode *et al.*, 1990). A doxiciclina é um composto semi-sintético derivado da tetraciclina (Slawomir *et al.*, 1997) que atua na remoção da *smear layer* e expõe a matriz orgânica subjacente, além de remover toxinas e atuar na liberação de

possíveis fatores inibindo o crescimento de microrganismos presentes na matriz orgânica da dentina, favorecendo a regeneração (Demirel *et al.*, 1991; Madison & Hockett, 1997; Barkhordar *et al.*, 1997, Soares *et al.*, 2011). Além disso, tem a capacidade de inibir o metabolismo das enzimas da matriz de metaloproteinases (MMPs), responsáveis pela degradação do colágeno e de componentes da matriz orgânica (Zhang *et al.*, 2009).

Realizado o tratamento prévio do substrato antes dos procedimentos de união, a opção pelos sistemas adesivos convencionais ou auto-condicionantes pode trazer vantagens ou desvantagens. Para os sistemas adesivos convencionais, a desvantagem seria o risco de colapso das fibrilas colágenas durante o procedimento de secagem da dentina, após o condicionamento ácido (Pashley *et al.*, 1993; Sano *et al.*, 1994; Paul *et al.* 1999). Já os adesivos auto-condicionantes proporciona união mais estável e eficiente (Carvalho *et al.*, 1998), associada à maior compatibilidade com as características do substrato dentário (Pashley e Carvalho, 1997). Entretanto, tem como desvantagem padrões de condicionamento ácido pouco efetivo (Perdigão *et al.*, 1997). Assim, quando forem utilizados os dois sistemas adesivos deve-se atentar para fatores influentes na qualidade da união como esclerose (Tay & Pashley, 2004), profundidade (Giannini, 2001; Yoshiama, 1995), padrão dentinário (Giannini, 2001; Marshall *et al.*, 1997; Pashley & Carvalho, 1997), presença de *smear layer* (Marshall *et al.*, 1997; Pashley & Carvalho, 1997), umidade (Reis, 2003), presença de lesões cariosas (Yoshiyama *et al.*, 1996) e alterações morfológicas (Ryou *et al.*, 2011).

Por outro lado, alterações morfológicas em dentina e lesões cariosas, muitas vezes atípicas, são fatores preocupantes frequentemente encontradas em pacientes com tumor maligno na região de cabeça e pescoço submetidos ao tratamento radioterápico (Silverman, 1999). A maioria destes tratamentos envolvem a irradiação do paciente usando raios gama do Cobalto 60, com raios X de 6 a 18 MV e/ou com elétrons 6 a 20 MeV de aceleradores lineares (Cunha *et al.*, 2000). Esta escolha envolve o tipo de radiação e a energia necessária baseando-se em parâmetros geométricos do volume-alvo. As doses de radiação empregadas são geralmente entre 50 a 74 Gy, em frações diárias de 1,8 a 2 Gy, durante o período de cinco dias da semana (Tupchong *et al.*, 1991; Salvajoli *et al.*, 1999).

Durante o tratamento radioterápico, efeitos diretos e indiretos são observados, considerando que a irradiação também atinge os tecidos circunvizinhos da região doente. Estudos mostraram não haver diferenças com relação à solubilidade e profundidade de desmineralização dentinária (Walker, 1975; Sahnnon *et al.* 1978; Rossler *et al.* 1995). Já ao considerar a dentina, significativa redução na microdureza tem sido observada após a irradiação (Kielbassa *et al.* 1997 e 1999, Soares *et al.*, 2011). Esses efeitos são acompanhados de redução na estabilidade da junção amelo-dentinária (Pioch *et al.*, 1992), bem como redução na resistência ao desgaste (Davis, 1975). Além disso, a irradiação danifica as fibras colágenas (Cheung *et al.*, 1990), o que pode explicar ineficiência da adesão entre o material restaurador e o substrato

dentinário, principalmente após altas doses de irradiação (Pioch *et al.*,1998, Soares *et al.*, 2011).

Entre os efeitos diretos da radiação, está a ação sobre as enzimas metaloproteinases (MMPs), um grupo enzimático responsável pela degradação dos componentes da matriz extra-celular e da membrana basal (Birkedal-Hansen-H, 1993). As MMPs também atuam na modificação das funções biológicas de macromoléculas reguladas a partir de diversos agentes efetores como fatores de crescimento, agentes químicos ou de transformação celular oncogênica expressados geneticamente. (Nagase H, Woessner Jr, 1999). Essas alterações se refletem na destruição latente do parênquima, resultando no desenvolvimento de cáries na superfície do esmalte dental, principal fator para rápida progressão da cárie de radiação, juntamente com o efeito da hipossalivação (Springer *et al.*, 2005). Deste modo, as MMPs são importantes nas pesquisas para auxiliar na descoberta de diagnóstico, prognóstico e tratamento dessas doenças (Colombo e Rahal, 2008).

Aliado aos efeitos diretos citados, indiretamente a radioterapia aumenta a suscetibilidade no desenvolvimento de cárie, através da redução do fluxo salivar, modificações nas características da saliva e desenvolvimento de microrganismos cariogênicos. Isso facilita o desenvolvimento da cárie de irradiação, processo cariioso desenvolvido após a irradiação de progressão rápida e iniciado geralmente na região do colo dental (Joyston-Bechal 1985, Rosales *et al.*, 2009), o que agrava ainda mais a progressão da lesão.

Diante desses problemas, Odlum (1991) e Geursten *et al.* (1991) recomendam técnicas restauradoras adesivas para reabilitação dessas situações clínicas. Entretanto, Wöstmann e Rasche (1995) observaram que restaurações com resinas compostas apresentavam longevidade reduzida nos pacientes submetidos à terapia radiativa, devido aos efeitos colaterais nos tecidos dentais duros.

Com a finalidade de analisar a resistência de união adesiva em pacientes submetidos à radiação, diferentes ensaios mecânicos podem ser empregados para verificar a resistência de união dos sistemas adesivos à dentina (Al-Salehi; Burke, 1997). Na metodologia de microtração (Sano *et al.*, 1994), a confecção de amostras com pequena área de superfície unida proporciona maior uniformidade na distribuição das tensões na interface de união (Raposo *et al.*, 2012), facilitando a verificação da magnitude da resistência máxima de união e principalmente a caracterização do padrão de fratura (Schreiner *et al.*, 1998).

Diante do grande insucesso nos procedimentos restauradores adesivos observados rotineiramente em pacientes submetidos ao tratamento radioterápico, é suscitada a hipótese que a radiação é um fator negativo na união dos materiais odontológicos às estruturas dentais. Assim, este tipo de estudo é importante para avaliar a influência da radiação na resistência de união de restaurações diretas na dentina; E ainda avaliar o possível tratamento de preparos cavitários em superfícies dentinárias com o cloridrato de doxiciclina.

## 2 - REVISÃO DA LITERATURA

Vários fatores envolvem uma possível interferência da radioterapia para com a união dentinária através de compósitos tratados com antimicrobianos ou não. De acordo com a literatura pesquisada, os tópicos de interesse abrangeram os seguintes temas:

- A radioterapia para tratamento de câncer de cabeça e pescoço, bem como suas consequências clínicas na cavidade bucal;
- A resistência de união dentinária analisada através de ensaios mecânicos de microtração ou microcisalhamento;
- E o tratamento de superfícies a serem restauradas com soluções antimicrobianas.

Com a finalidade de melhor apresentar esta literatura, os tópicos anteriores foram abordados em ordem cronológica como se segue.

Em 1958, Grune e Stratton descrevem em seu livro “Introdução a Radioterapia” a descoberta do raio X, em 1895 por Wilhelm Konrad Roëntgen e um ano após a descoberta do raio  $\gamma$  por Antoine Henri Becquerel. Em 1904, Madame Curie descreveu em sua tese de doutorado um experimento usando radio para produzir feridas curáveis e desenvolveram um possível tratamento para neoplasias malignas. Em 1951 foi desenvolvida a primeira unidade de terapia no Canadá, por H. E. Johns com o elemento  $^{60}\text{Co}$ . Em 1953 o acelerador linear de

elétrons foi utilizado pela primeira vez, sendo posteriormente desenvolvidos estudos, chegando ao Brasil por volta de 1971.

Em 1975, Davis analisou a hipótese de que os dados de abrasividade são independentes de qualquer alteração que possa ocorrer na matriz dentinária, como resultado das condições do armazenamento e irradiação das amostras de dentina antes de serem submetidas ao ensaio de abrasividade. Foram utilizados 12 incisivos humanos e separados em 2 grupos (n=6). Metade dos dentes foram armazenados em água destilada por 1 mês, e durante este período foram submetidos a irradiação e a abrasividade da dentina analisada empregando diferentes pastas abrasivas. A resistência ao desgaste e a dureza Knoop dos dentes não-irradiados foi verificada antes e após o período de armazenagem em água destilada, por 28 dias. Os dados mostraram que a resistência ao desgaste reduziu após serem submetidas a irradiação cerca de 25%. Para os dentes que não foram submetidos a irradiação, o desgaste aumentou e a dureza Knoop diminuiu após o período de armazenagem em água destilada, por 28 dias.

Posteriormente, foram observados alguns efeitos secundários da radioterapia, especialmente na cavidade bucal, assim em 1978 Shannon *et al.* formularam e analisaram a produção de saliva artificial VA-OraLube, na tentativa de remineralizar o esmalte dental e com a finalidade de aliviar os sintomas de tecido mole intra-bucais. Na solução foram incorporados cálcio, fósforo e/ou flúor como ativos importantes na remineralização, os quais chegaram a níveis numéricos de 5,5% e 5,2% de remineralização do esmalte, comparados a 7,3%,

com o uso de uma solução de saliva natural. Assim, foi preconizando o uso da solução de saliva artificial para pacientes com xerostomia induzida pelo tratamento radioterápico com o alto nível de aceitação entre eles devido ao conforto induzido temporariamente.

Em 1982, Mossman *et al.* analisaram 13 pacientes tratados com radioterapia de tumor de cabeça e pescoço. A função gustatória e das glândulas salivares foram quantitativamente avaliadas de acordo com o fluxo salivar e o nível de secreção proteica. Os resultados mostraram que nove pacientes (69%) apresentaram perdas gustatórias e 100% apresentaram disfunções salivares, demonstradas por até longos períodos depois do tratamento finalizado. Este estudo mostrou que a dose máxima de tolerância estimada para um nível de complicações de 50%, cinco anos após o tratamento foi 40 a 65Gy para xerostomia e 50 a 65Gy para perda do paladar. Além disso, dentro dos tratamentos preconizados para tumores de cabeça e pescoço, com intenção de cura, os tecidos das glândulas salivares e gustatórias frequentemente resistem aos efeitos da dose máxima comumente utilizada.

Em 1989, Von Fraunhofer *et al.* analisaram sobre o efeito da radioterapia em compósitos restauradores através da resistência à tração diametral, como indicador de resistência das forças mastigatórias; Da dureza de superfície e subsuperfície, correlacionadas com a resistência ao desgaste e a abrasão do material; e sorção de água e solubilidade, e estabilidade dimensional, relacionadas

à infiltração do material. Os autores verificaram que a radiação gama induz o aumento da dureza dos compósitos, reduz a sorção e a solubilidade em água. Clinicamente, verificou tendência da redução ao desgaste por abrasão, sem verificar efeitos deletérios aos materiais restauradores após a irradiação gama, em níveis terapêuticos. Desse modo verificou não ser necessária a remoção de restaurações, como tratamento prévio a radioterapia.

Em 1990, Cheung *et al.* observaram como as moléculas do colágeno foram danificadas pelo procedimento de radiação  $\gamma$  (Gama), com doses empregadas para esterilização de produtos biomédicos. Com 1 Mrad, enquanto a efetividade da radiação com baixa dosagem para esterilizar um material completamente é questionável, menor dano foi causado a estrutura de peptídeos colagenosos. Acima desta dosagem, porém, danos significativos foram observados de forma clara em colágenos isolados ou em matriz com ligações cruzadas. O estudo de digestão enzimática mostrou que o material que foi exposto à dosagem muito alta de radiação resistiu à degradação pela pronase. Porém, a análise do peso molecular mostrou número significativo de clivagem pela radiação entre as ligações peptídicas, que poderiam promover alterações consideráveis em longo prazo nas características do material. Desse modo, os tecidos que foram expostos a altas dosagens de radiação  $\gamma$  deveriam ser avaliados para alterações funcionais em períodos mais longos. Os autores alertaram quanto à utilização do modelo de degradação enzimática como um teste universal para todos os derivados bioprotéticos dos tecidos biológicos.

Em 1990, Jansma *et al.* Analisaram propriedades de permeabilidade do esmalte bovino, através de medidas de impedância complexas e experimentos de difusão com radioisótopos antes e após o esmalte bovino ser submetido ao procedimento de irradiação com raio-X, em dose única de 72 Gy. Os autores verificaram que as medidas de impedância e os experimentos de difusão não mostraram alterações significativas na permeabilidade do esmalte bovino.

Em 1992, Pioch *et al.* avaliaram a estabilidade de dentes radiados na região da junção cimento-esmalte. Os resultados mostraram que os raios ionizantes reduziram a resistência ao microcisalhamento e a estabilidade geral, em função às forças laterais que promoveram “dobras de tensão”. Como os espécimes foram irradiados em umidade, o efeito ionizante da radiação resultou em reações químicas com a água formando radicais livres de hidrogênio e peróxido de hidrogênio, como oxidante forte na desnaturação dos componentes dentários. A destruição da matriz orgânica reduziu não somente a ligação entre o esmalte e a dentina, mas a estabilidade interna da dentina com fibras colágenas.

Já quanto ao processo cariioso, em 1993, Jansma *et al.* induziram em uma análise *in situ* do início e a progressão de cáries por radioterapia, ou seja, cárie de progressão rápida e agressiva devido ao tratamento de radiação na região de cabeça e pescoço. Além disso, compararam a morfologia em processo semelhante ao da cavidade bucal. Os autores observaram os mesmos padrões de desestruturação, áreas dispersas com porosidade no esmalte dental, formação de

cavidades com exposição na subsuperfície do esmalte, padrão de dissolução dos prismas do esmalte, com dissolução dos núcleos prismáticos, perda de grande parte da superfície do esmalte e exposição da dentina subjacente. Tal modelo ofereceu embasamento para estudos de tratamentos preventivos de remineralização com flúor durante o tratamento radioterápico, em função às semelhanças descritas com lesão normal de cárie.

Ainda no ano de 1993, Grevstad partiu visando possíveis tratamentos alternativos para problemas na cavidade bucal, usaram o antimicrobiano considerado o mais forte dentre as tetraciclinas chamado de doxiciclina, administrados sistematicamente em camundongos para quantificar seu efeito na degradação do tecido duro em cirurgia mucoperiosteal. As razões para a escolha deste antimicrobiano, entre as tetraciclinas, foram as propriedades anticolagenolíticas em potencial e a tendência rápida na absorção do trato gastrointestinal. Entretanto, em função da dose da forma como foram administrados serem empíricos, os resultados não mostraram linhas de reversão ou formação óssea nova sobre o osso remanescente, porém preveniram a reabsorção radicular e perda óssea.

Já Barkhordar *et al.* em 1997, avaliaram a habilidade na remoção da camada de “*smear layer*” pela doxiciclina dentro do canal radicular comparando-a com outras soluções irrigantes. Os autores verificaram que a acidez da doxiciclina juntamente com o hipoclorito de sódio (pH=2) foi responsável pela quebra

superficial e intratubular da “*smear layer*”. Além disso, aderiu à dentina e foi liberada subsequentemente sem perder sua atividade antibacteriana, criando desta forma um reservatório do agente antibacteriano ativo.

Em 1997, Kielbassa *et al.* verificaram o efeito da irradiação na microdureza da dentina bovina. Blocos de dentina da região cervical de incisivos bovinos foram separados em 4 grupos de acordo com os tratamentos: Grupo 1 - sem irradiação (controle); Grupo 2 - irradiação das amostras até 60 Gy (2Gy/dia, 5 dias/semana); Grupo 3 - sem irradiação, porém com fluoretação das amostras por 5 min/dia; e, Grupo 4 - irradiação das amostras e fluoretação diária. A valor de dureza Knoop das amostras do grupo controle foi de 62,63 KHN, sendo significativamente superior as amostras de dentina irradiada 8,74 KHN. A dureza das amostras de dentina fluoretada foi 11,19 KHN para o grupo das amostras não-irradiadas e 10,03 KHN no grupo irradiado, respectivamente. Os autores concluíram que a dentina foi afetada severamente pela irradiação. Desse modo, isto poderia ser uma explicação para o efeito colateral frequentemente observado após a irradiação como perda de esmalte, formação de fenda na junção amelodentinária e cáries na região cervical do dente. A fluoretação com géis ácidos reduziu a microdureza da dentina, porém não preveniu o amolecimento causado pela

Em 1999, Kielbassa *et al.* avaliaram „os efeitos da radiação no início de cáries em esmalte em diferentes condições higiênicas usando análise de microradiografia e microdureza, correlacionando os dados de microdureza com

cortes transversais das lesões e seu conteúdo mineral ilustrado pela microradiografia transversal. A média das endentações por localidade foram calculadas e transformadas em Dureza Knoop. Os autores concluíram que a microdureza do esmalte não foi afetada pela radiação sugerindo que as mudanças induzidas por ela na microestrutura são mais alterações químicas do que físicas. Entretanto, a formação de radicais livres poderia ser responsável pela reação adversa em tecidos duros.

Em 2000, Al-Nawas *et al.* avaliaram as o módulo de elasticidade do esmalte e da dentina, através do uso do ultrassom de velocidade de transmissão após a radioterapia em amostras *in situ*, *in vitro* e *in vivo* empregando o ultrassom Os autores observaram que a hidroxiapatita presente no esmalte sofreu alterações *in vivo*, *in situ*, *in vitro*. A formação dos radicais das moléculas nas moléculas de água são os iniciadores da reação de destruição pela radiação, particularmente na matéria orgânica como o esmalte interprismático. Logo, a integridade e as propriedades mecânicas do esmalte foram afetadas, sendo que as propriedades mecânicas da dentina foram menos afetadas que o esmalte. Além da perda de elasticidade da dentina, alterações da junção cimento-esmalte (JCE) foram descritas, explicando os sintomas clínicos de destruição completa de áreas da JCE, em dentes radiados *in vitro*. Retração dos odontoblastos após a irradiação *in vivo* foi a única correlação histomorfológica das alterações nas propriedades mecânicas da dentina radiada.

Em 2000, Kielbassa *et al*, analisaram a desmineralização inicial da dentina em dentes humanos radiados e não radiados *in situ*. Após o preparo os fragmentos de dentina foram expostos a doses fracionadas em 2 Gy diários por cinco dias na semana, num total de 60 Gy. Além do grupo controle não radiado, todos os fragmentos foram fixados em dispositivos intra-orais e usados por voluntários durante 5 semanas completas. Um lado das amostras fora escovado diariamente com dentifrício sem flúor e o lado oposto foi mantido com a formação do biofilme, sendo que durante as refeições, os dispositivos intra-orais foram mantidos em solução de sacarose a 10%. Após o período *in situ*, os espécimes foram analisados em microscopia transversal e analisados quanto à perda mineral e profundidade da lesão. Os resultados mostraram diferença entre o grupo higienizado e o não higienizado, porém sem diferença entre o grupo radiado e não radiado. Os autores concluíram que se técnicas de higiene bucal corretas foram utilizadas, não há possibilidade da dentina irradiada ser mais susceptível a cárie do que a dentina não irradiada.

Em 2000, Boncangel *et al*. verificaram as necessidades do uso de substâncias desinfetantes para a descontaminação do preparo dentinário e a complexidade da possível alteração no processo de adesão. Os autores verificaram a influência do hipoclorito de sódio 2,5%, da clorexidina 2% e do flúor fosfato acidulado 1,23% na resistência de união de um sistema adesivo de quarta geração. Os resultados mostraram não haver diferença estatística quanto à resistência de união dos substratos dentinários tratados em relação ao grupo

controle. Segundo os autores, a solução desinfetante atinge somente a “*smear layer*” e a dentina superficial, ambas são removidas com o condicionamento ácido.

Em 2001, Gernhardt *et al.* avaliaram a influência da radioterapia na resistência à tração com diferentes adesivos em dentes humanos simulando a perfusão dentinária em paciente irradiados. Foi então realizado um estudo *in vitro* levando em consideração os efeitos colaterais da radiação nos tecidos dentais duros, como a redução da microdureza, da estabilidade da JCE e da resistência ao desgaste, além da destruição das fibrilas colágenas. Foi observado que tais alterações na dentina não influenciaram na resistência de união e a simulação da perfusão dentinária parece ter reduzido os valores numéricos comparados com outros estudos. Por isso, foi concluído que a irradiação não interferiu na camada híbrida responsável pela adesão compósito-dentina.

Além de uma higiene correta, outros procedimentos podem ser adotados durante e após a radioterapia. Em 2003, Labbate *et al.* avaliaram o efeito do gluconato de clorexidina como proteção sobre a mucosa bucal durante o tratamento e o seu efeito na qualidade de vida dos pacientes. De um total de 21 indivíduos com idade média de 28 anos, um grupo com 11 voluntários receberam água destilada (placebo) para bochecho duas vezes ao dia e os outros dez voluntários receberam gluconato de clorexidina a 0,12% para bochecho duas vezes ao dia. A avaliação dos pacientes seguiu um cronograma semanal com exames na cavidade bucal com a finalidade de verificar se alterações ocorreram

na mucosa, seguido de preenchimento de um questionário sobre a qualidade de vida ressaltando os aspectos de cor, apetite, paladar e hábitos alimentares. Os resultados mostraram que o grupo utilizando o placebo apresentou frequência e intensidade das dores maiores na quarta semana da radioterapia, enquanto alteração do paladar foi mais intensa nos voluntários que não usaram a solução apenas na sétima semana. Quanto aos outros sintomas, não foram encontradas diferenças nos parâmetros de qualidade de vida. Assim, os autores concluíram que o gluconato de clorexidina não foi eficiente para eliminar a lesão da mucosite, mas reduziu seus efeitos deletérios e sua intensidade.

A mucosite e outras sequelas da radioterapia também foram o foco da revisão de literatura realizada por Vissink *et al.* em 2003, sendo que a mucosite e a perda de paladar são consequências reversíveis, enquanto a hipossalivação é normalmente irreversível e o risco de desenvolver cáries de radiação e osteoradionecrose é constante. Também podem ser divididos em efeitos imediatos (mucosa, paladar e glândulas salivares) e tardios (glândulas salivares, dentição, periodonto, ósseo, músculos e articulações). Quanto aos efeitos na mucosa da cavidade bucal, eles são diretamente relacionados à dose, fracionamento, volume do tecido irradiado e tipo de radiação ionizante (*Apud* Maciejewski *et al.* 1991, Scully e Epstein, 1996; Denham *et al.*, 1999; Handschel *et al.*, 1999). A mucosite induzida por radioterapia é caracterizada pela atrofia do tecido epitelial escamoso, ausência de danos vasculares e um infiltrado inflamatório concentrado na região basal (*Apud* Handschel *et al.*, 1999). Já a candidose é a infecção mais comum na

cavidade bucal durante ou logo após a radioterapia (*Apud* Epstein, 1990; Ramirez-Amador *et al.*, 1997), diversos pacientes são colonizados pela *Candida albicans* (*Apud* Chen e Webster, 1974) agravando mais o estado da mucosite segundo alguns autores ( *Apud* Beumar *et al.*, 1979; Al-Tikriti *et al.*, 1984). Outro fator importante nas sequelas da radioterapia é a perda de paladar. Além da perda de apetite e perda de peso (*Apud* Erkurt *et al.*, 2000). Diversos pacientes apresentaram perda total ou parcial do paladar durante a radioterapia (*Apud* Beumer *et al.*, 1979) devido aos danos causados pela radiação nos botões gustativos e nas fibras nervosas internas (*Apud* Conger, 1973; Dreizen *et al.*, 1977; Mossman, 1986), sendo mais frequentemente um efeito transitório (*Apud* Tomita e Osaki, 1990).

Além disso, aponta os efeitos nas glândulas salivares com alterações tanto na quantidade como na qualidade salivar do paciente irradiado. No que diz respeito à qualidade salivar, a saliva se torna viscosa, esbranquiçada, amarelada ou um fluido castanho (Bem-Aryeh *et. al.* 1975; Dreizen *et. al.*, 1976). Quanto a quantidade reduzida de saliva, ela induz redução do pH e capacidade tampão, níveis eletrolíticos da alteração salivar, mudanças no sistema imune antibacteriano, causando sintomas como queimação sensitiva relatada pelo paciente. Por outro lado, as causas na dentição apontadas são importantes e englobam a sensibilidade a alterações da temperatura ou alimentos doces e ácidos, provavelmente relacionadas com a perda de proteção superficial da saliva. Diferentes tipos de lesão cariosa foram relatados, primeiro uma lesão que inicia na

superfície cervical vestibular de incisivos e caninos e progride para região interna, frequentemente resultando na amputação da coroa. Um segundo tipo de lesão, afeta primeiro a face vestibular e depois a palatina ou lingual, com um início difuso, progredindo para uma erosão irregular da superfície dentária. Outro tipo de lesão cariosa, porém menos frequente consiste na descoloração da coroa inteira acompanhada de desgaste da superfície incisal ou oclusal.

Em complemento ao seu trabalho de revisão, no mesmo ano de 2003 Vissink *et al.*, revisaram a prevenção e tratamento das consequências da radioterapia de cabeça e pescoço. Neste estudo, foi ressaltada a importância da prevenção ou redução máxima dos efeitos do tratamento. Para a mucosite, a maioria dos programas de apoio recomenda evitar fatores irritantes a mucosa, higienizá-la, manter a umidade da cavidade oral e dos lábios, aliviar a inflamação e dor da mucosa, e a prevenção e o tratamento da infecção (*Apud* Miaskowski, 1990; Scully e Epstein, 1996); De fato, uma boa higiene é fundamental para evitar o desenvolvimento e progressão da doença também. Para a hipossalivação, alguns enxaguatórios bucais são indicados (*Apud* Klestov *et al.*, 1981; Wiesenfeld *et al.*, 1983) e complementados com retardadoras da dissolução do esmalte como fluoretos ( *Apud* Shannon *et al.*, 1978; Vissink *et al.*, 1985). Para a cárie de radiação, a aplicação frequente de fluoretos deve ser seguida e higiene adequada deve ser utilizada pelo paciente (*Apud* Dreizen *et al.*, 1977; Horiot *et al.*, 1983; Jansma *et al.*, 1989; Epstein *et al.*, 1996).

Quanto aos fatores de influência nos resultados de testes mecânicos de resistência a tração, um fator de grande importância foi pesquisado por Inoue *et al.* em 2003 e envolve a direção e profundidade dos túbulos dentinários. De acordo com os autores, quando a tensão foi aplicada perpendicularmente a direção dos túbulos, os valores de união foram maiores do que quando aplicada paralelamente. Já quanto à profundidade da dentina, a dentina profunda apresentou resultados inferiores em relação à dentina média e superficial, uma vez que as densidades dos túbulos aumentam com a profundidade da dentina. Além disso, dependendo da direção da tensão aplicada, os túbulos podem ser considerados potenciais precedentes de trincas. A análise da fractografia mostrou que metade das origens das fraturas surgiu na periferia ou no limite das amostras quando a tensão era paralela aos túbulos. Por outro lado, a outra metade das origens das fraturas estipuladas era localizada perpendicularmente aos túbulos dentinários.

Ao aprofundar a pesquisa em substrato dentinário, Springer *et al.* em 2005 verificou os efeitos diretos e instantâneos da radiação no conteúdo de colágeno ou matriz extracelular nos tecidos dentários junto às características de hipossalivação em pacientes radiados. Foram analisadas as concentrações de colágeno de hidroxilisil (HP) e lisilpiridinoline (LP), as quais aumentaram significativamente em partes agrupadas da polpa irradiada em relação às partes agrupadas de polpas não irradiadas. Desse modo, quando dentes com vitalidade estão nos locais de radiação ocorre hipovascularização reduzindo a circulação no tecido pulpar. Por

outro lado, quando fragmentos de colágeno radiados e não irradiados em tecidos dentais mineralizados foram comparados e não mostraram diferença significativa nas concentrações de HP e LP, implicando na quantidade de colágeno danificado; E conseqüentemente nos malefícios diretos da radiação no colágeno da dentina do esmalte não participando do desenvolvimento da cárie de radiação. A polpa dental é importante para manter o metabolismo dos odontoblastos e o equilíbrio hidrostático da dentina e com a destruição do colágeno pela radiação acaba por contribuir para a fibrose secundária e decréscimo da vascularização, prejudicando o metabolismo dos odontoblastos. A obliteração dos túbulos dentinários, com a degeneração do metabolismo dos odontoblastos, ocorre devido à destruição celular pela dificuldade de vascularização e do metabolismo, particularmente na área das terminações dos odontoblastos. Os autores observaram a destruição da matriz extra-celular após radiações clínicas, sugerindo destruição latente do parênquima e resultando em sintomas como cáries de superfície, principal fator para rápida progressão da cárie de radiação, portanto com questões que abrangem além da hipossalivação.

Em 2006, Fränzel *et al.* avaliaram o efeito da radiação na desmineralização e remineralização dos tecidos dentais. Foram utilizados terceiros molares humanos que foram expostos a radiações fracionadas até 60 Gy ou não irradiadas (controle). Os dentes irradiados e não irradiados foram desmineralizados utilizando gel ácido de hidroxí-celulose. Após isso, os dentes foram remineralizados usando Bifluorid12<sup>®</sup> ou Elmex Gelee<sup>®</sup>. A técnica de

nanoindentação foi utilizada para analisar a dureza e elasticidade, dos dentes em cada uma das condições. Os dados foram comparados com o grupo controle. A radiação reduziu significativamente os parâmetros mecânicos do esmalte e da dentina. Nos dentes que não foram irradiados, a desmineralização apresentou quase os mesmos efeitos da radiação nas propriedades mecânicas. Nos dentes que foram submetidos à irradiação, o efeito da desmineralização foi negligenciável em relação aos dentes que não foram irradiados. A remineralização com Bifluorid12<sup>®</sup> ou Elmex Gelee<sup>®</sup> melhorou parcialmente as propriedades mecânicas dos dentes. O esmalte foi mais remineralizado do que a dentina.

Além da análise estrutural de cada elemento da estrutura dentária, a análise estatística é importante para análise dos resultados observados apropriadamente. Em 2007, Eckert *et al.* consideraram a análise estatística especificamente no teste de microtração com o intuito de promover os dados necessários para uma análise estatística mais próxima da realidade possível para avaliação. Os resultados não apontaram um padrão geral de correlação entre os palitos. Ou seja, com isso foi demonstrado que os estudos de microtração precisam considerar a correlação entre os palitos para evitar exageros quanto à significância estatística dos resultados.

Em 2008, Alvarenga *et al.* realizaram um estudo num hospital no estado de São Paulo e mostraram alta incidência de pacientes diagnosticados com câncer na cavidade bucal, cujos valores correspondem a 40% somente entre os casos de

câncer de cabeça e pescoço. No Brasil, entre todos os tipos de câncer, esse valor corresponde a 2% dos casos, com uma das maiores estatísticas mundiais, mais frequente em homens, tabagistas e com idade acima de 40 anos.

Ainda em 2008, Walker *et al.* desenvolveram, validaram e avaliaram a utilidade de um índice, mais especificamente, uma listagem para classificação dos aspectos clínicos da destruturação dentária após a radiação. Quatro dentistas com conhecimentos em cuidados especiais para pacientes irradiados, radiologia oral e mineralização tecidual revisaram fotografias clínicas, com amplo número de lesões cariosas causadas por radiação com variações em tamanho, severidade e localização. Com base em um “ranqueamento” da severidade da lesão e pontos específicos sobre a continuidade da lesão uma escala ordinal e semi-quantitativa foi desenvolvida. O objetivo também foi determinar se existia correlação entre a severidade da destruição dentária e dose de radiação ao nível dentário. Até então não havia escalas para caracterização desses padrões destrutivos da cárie de radiação. Isso possibilitaria pesquisadores clínicos classificarem a extensão da destruição observada nos pacientes pós-radiados com mais validade. Primeiramente, o intuito foi focar na severidade da destruição dentária pelo índice, com os aspectos em “score” da superfície. Após, o componente de “score” de restauração permitiria a avaliação de lesões pós-radiadas que provavelmente seriam restauradas com tempo. As primeiras evidências sugeriram que o índice, quando usado por clínicos experientes, tiveram excelente confiabilidade e concordância em relação aos critérios observados. O também sugeriu a aplicação

do índice para elucidar se existe relação entre a severidade de destruição dentária e a dose de radiação. Além disso, avaliar o potencial de destruição da estrutura dental com o tempo.

Depois de devidamente diagnosticados, são necessários alguns cuidados especiais com a saúde dentária antes e após o tratamento radioterápico. Em 2009, Rosales *et al.*, relataram que a radiação ionizante que não age apenas nas células tumorais, mas causa danos aos tecidos normais localizados no campo de radiação. Os dados mostraram que condições bucais inadequadas geralmente requerem exodontias prévias à radioterapia, exigindo um tempo mínimo de duas semanas entre a exodontia e a radioterapia, exigindo um tempo mínimo de duas semanas para cicatrização e evitando a osteorradição. Além disso, é importante o paciente entender que a radioterapia na cabeça e pescoço pode levar ao aumento no índice de cáries de difícil tratamento. Por outro lado, um aumento no número de extrações profiláticas realizadas antes da radioterapia, junto com a melhora na higiene bucal dos pacientes pode explicar a redução no índice de pacientes que precisam de tratamento endodôntico. Este tratamento é complicado para pacientes que passaram por radioterapia, pois é necessária colaboração do paciente para finalização do caso e ainda assim muitas vezes pode ocorrer cárie cervical, com possível amputação da coroa. Quanto às exodontias necessárias após o tratamento com a radiação, na maioria dos casos são para pacientes que não passaram por avaliação anterior, o que ressalta a

necessidade de um tratamento multidisciplinar e alerta quanto à necessidade de avaliação odontológica antes da radioterapia.

Em 2009, Silva *et al.* realizaram um estudo avaliando a união da interface dentina/compósito em dentes extraídos de pacientes que terminaram a radioterapia de cabeça e pescoço. Ao considerar o alto índice de cárie e longevidade reduzida da restauração, quinze dentes extraídos de onze pacientes irradiados entre 50 a 70,4 Gy, com restauração em resina composta ou cimento de ionômero de vidro para tratar cáries de radiação, foram analisados em microscopia eletrônica de varredura e microscopia de luz polarizada. Cada dente foi descrito quanto à preservação do material restaurador. A dentina exposta também foi observada nos limites superficiais da restauração com coloração marrom seguindo a orientação dos túbulos dentinários, exceto em cinco amostras. Em microscopia de luz polarizada nenhuma alteração foi observada no esmalte adjacente à restauração. Lesões de cáries foram detectadas nas bordas cervicais e nas margens das restaurações em 8 amostras (53%), com morfologia de cárie apresentando dentina macia, desmineralizada e zona translúcida abaixo da dentina desmineralizada. As imagens em microscopia eletrônica de varredura mostraram, dentina desmineralizada caracterizada pela baixa densidade eletrônica com túbulos dentinários apresentando diâmetro maior. Assim, na microscopia de luz polarizada foi possível observar os estágios iniciais da desmineralização, semelhante aos padrões da carie residual. Além de lesões em dentina cervical, compatíveis com cárie secundária que mostraram padrões morfológicos

convencionais não irradiados, com dentina amolecida, zona desmineralizada superficial e zona translúcida desmineralizada observadas em microscopia eletrônica de varredura. As cáries residuais deixadas durante o preparo cavitário podem ter impossibilitado a adesão do material restaurador e provocado falhas prematuras. Portanto, a destruição pela radiação da rede de colágeno não interferiu na formação da camada híbrida e conseqüentemente não impossibilitou a união da dentina com o compósito.

Em 2009, Zhang *et al.*, analisou a estabilidade das restaurações com o objetivo verificar o papel das enzimas Matriz Metaloproteinases (MMPs) originadas da dentina e atuantes na redução da união dentinária; Além disso, sugere-se que os inibidores dessas enzimas podem inibir também a degradação do colágeno aumentando a durabilidade da união dentinária. Assim, o desafio da união dentinária abrange duas situações, como a degradação das matrizes resinosas instáveis acima da camada híbrida pela sorção de água e hidrólise no passar do tempo, ao mesmo tempo da degradação colágena pelas MMPs, agindo abaixo da camada adesiva. As MMPs intrínsecas podem ser ativadas em pH ácido criado pela lactate, a qual é produzida por bactérias cariogênicas. A liberação das MMPs tem origem no complexo dentino-pulpar, mais precisamente dos odontoblastos e pode ser estimulada pelos adesivos auto-condicionantes. Seus monômeros com menor pH criam menor atividade de MMPs, entretanto, os valores de pH de diversos sistemas adesivos comerciais com monômeros de maior pH podem desmineralizar a dentina, mas não possuem caráter ácido suficiente para

desnaturar MMPs. Isto pode contribuir para a degradação do colágeno da interface de união, o que reduziria a resistência de união em longo prazo. Além da infiltração dentinária imperfeita, a água é outro fator indispensável para a função hidrolítica das MMPs. Como são hidrolíticas, a presença da água é necessária para a hidrólise de peptídeos no colágeno, resultando na degradação da interface dentina/compósito. Em contrapartida, os inibidores das MMPs podem atuar a favor da união dentinária. Eles podem ser endógenos e exógenos. Dentre os inibidores endógenos estão atuando principalmente os remodeladores da matriz extracelular, destruídos em muitas doenças. Já os inibidores extrínsecos junto dos endógenos podem ser usados para bloquearem a progressão da doença, entre eles estão a clorexidina, inibindo as propriedades das MMPs mesmo em baixas concentrações, o lloprost (também chamado de Galardin) que inibiu a movimentação ortodôntica em ratos e a tetraciclina, antibiótico comumente usado no tratamento periodontal, e suas formas semi-sintéticas doxiciclina e minociclina, com a capacidade em inibir MMP1, MMP2 e MMP12.

Em 2009, Andrade *et al.* verificaram que a função da doxiciclina é reduzir ou remover espécies prejudiciais ao periodonto das superfícies dentárias. Segundo os autores, isso é alcançado mais comumente com a remoção mecânica, entretanto, em alguns casos é necessária à complementação com a terapia química. Neste caso, a tetraciclina é mais rotineiramente utilizada e absorvida melhor quando aplicada via oral em comparação com a doxiciclina. Quando ingerida, sua efetividade abrange uma melhora no tratamento de periodontite

agressiva, abscesso periodontal e periodontite crônica. A doxiciclina também pode ser administrada por via tópica, mais efetiva em pacientes com periodontite crônica, em manutenção, com periodontite agressiva e em superfícies de difícil acesso para raspagem. De qualquer maneira, é lembrada a importância de uso cuidadoso, uma vez que o uso indiscriminado deste medicamento pode levar a seleção de cepas resistentes e prejudicar o tratamento.

Em 2010, Tezvergil-Mutluay *et al.* pesquisaram sobre as características das MMPs quanto a necessidade do zinco e íons de cálcio para atividade funcional delas em matrizes dentinárias desmineralizadas. Esses íons, componentes normais dos fluidos do corpo, podem ser perdidos durante o condicionamento ácido e o enxágue. A partir deste princípio, se as amostras dentinárias unidas ao compósito forem armazenadas em água, ao invés de soluções tampão de cálcio e zinco, a influência das MMPs na degradação da matriz *in vitro* poderia ser subestimada. Por outro lado, se armazenados em soluções experimentais contendo cálcio e zinco, caso as MMPs estivessem ativas, elas iriam vagarosamente solubilizar os fragmentos de colágeno que acumulariam no recipiente, podendo ser coletados e quantificados como remanescentes do colágeno. Ao observar tais fatos, foi avaliada a diferença na resistência da matriz, perda de peso seco e solubilização de colágeno da dentina desmineralizada; Quando armazenada em água comparada ao armazenamento em soluções com concentrações variadas de cálcio ou zinco. Os dados mostraram que o uso de água para envelhecer/armazenar os espécimes pode subestimar a atividade

hidrolítica das MMPs dentinárias endógenas e pode ainda promover perda de cálcio e zinco da matriz, ao invés de restaurá-la.

Em 2010, Albaladejo *et al.* avaliaram a formação da camada híbrida, tags resinosos, e ramos laterais adesivos unidos à dentina e garantir a microrretenção mecânica do compósito ao substrato dentinário. Os adesivos avaliados foram convencional (Single Bond e Prime&Bond), auto-condicionante de dois passos (Clearfil SE e Protect Bond) e auto-condicionante de passo único (Etch-prime). A microscopia eletrônica de varredura mostrou grande espessura da camada híbrida, além da alta resistência de união imediata em adesivos convencionais, sugerindo ausência de correlação entre a espessura de camada e a resistência de união. Os adesivos auto-condicionantes de dois passos (Clearfil e Protect Bond) têm composição semelhante, apresentando o monômero 10-MDP, e interagir quimicamente com hidroxiapatita disponível após desmineralização parcial da dentina;

Além disso, aumenta o molhamento, dissolve os “*smear plugs*” e limita a abertura dos túbulos, o que reduz a permeabilidade dentinária e facilita a penetração, impregnação, polimerização e o emaranhamento entre o monômero e a dentina inferior, para formação do complexo hibridizado. Quanto ao pH desses sistemas adesivos, ele varia de acordo com a concentração de ácidos polimerizáveis e monômeros, entretanto não interferir na morfologia da camada híbrida. O sistema adesivo auto-condicionante de passo único (Etch-Prime), rico

em outro monômero HEMA, mostrou zonas de gotas próximas à interface sistema adesivo/resina oriundas da absorção de água por osmose da dentina. Isso ocorre porque o HEMA tem baixo peso molecular e alta hidrofília, resultando nesta zona frágil quanto a durabilidade e efetividade, ele também promove a impregnação da resina ao colágeno exposto. Ao final, o papel do “tag” resinoso dependeu do agente de união dentinário testado, da posição do túbulo dentinário e da profundidade de dentina. A profundidade do próprio “tag” resinoso não contribuiu tanto para a resistência de união, por outro lado a adaptação das paredes internas dos túbulos contribui mais.

Em 2010, Wei *et al.*, avaliaram a resistência à microtração e as morfologias interfaciais de vários adesivos comumente utilizados quanto à união, para dentina afetada por cárie ou para dentina normal. Para o procedimento de união foram usados um sistema adesivo de dois passos convencional Single Bond 2 (3M ESPE, EUA), um sistema adesivo auto-condicionante de dois passos SE Bond (Kuraray, Japão) e dois auto-condicionantes de passo único, S3Bond (Kuraray, Japão) e GI iBond (Heraeus Kulzer, Alemanha). Após a aplicação do sistema adesivo, uma coroa de resina composta foi confeccionada e armazenadas as amostras em forma de palito foram obtidas para o teste de resistência à microtração. Segundo os autores, a vantagem do teste de microtração é eliminar a maioria das fraturas coesivas em resina ou dentina observadas no tradicional método de ensaio de resistência à tração, uma vez que a distribuição do estresse ocorre de forma não uniforme. Com este método, vários estudos têm indicado que

a resistência de união dentinária depende tanto do tipo de dentina (cariada ou normal) e dos sistemas adesivos usados. Este estudo mostrou que o sistema adesivo de dois passos Single Bond 2 apresentou resistência de união semelhante para dentina normal e afetada por cárie. Os sistemas auto-condicionantes apresentaram resistência de união significativamente menor quando aplicados sobre a dentina afetada por cárie comparada à dentina normal. Em todos os grupos de teste, as camadas híbridas e tags de resina formados em dentina cariada apresentaram diferenças morfológicas significativas em relação à dentina normal. As camadas híbridas foram mais espessas em dentina cariada, com formação de tags irregulares e curtos, e com menos extensões laterais de tags resinosos nos ramos dos túbulos dentinários. As próprias características estruturais da dentina sadia e cariada podem ser a razão destas diferenças morfológicas. A fase mineral da dentina cariada é remodelada por sequências repetidas de desmineralização e remineralização, que normalmente oblitera os túbulos com cristais minerais e resulta em menor permeabilidade em comparação com a dentina normal. No entanto, a espessura da camada híbrida e o comprimento dos tags de resina não se correlacionaram com a resistência de união.

Em 2011, Ryou *et al.* avaliaram o comportamento mecânico da dentina coronária quanto à importância da microestrutura e composição química nas falhas aparentes por sensibilidade tecidual. Dois grupos de dentina profunda e superficial foram divididos: controle (sem falhas) e um com uma falha bem definida

feita por uma única endentação a fim de promover uma concentração de estresse que competisse com falhas intrínsecas. Todas as amostras foram submetidas ao teste de resistência de flexão de quatro pontos. Foi usado o teste de distribuição de Weibull com os padrões de fratura analisados no microscópio eletrônico e óptico. Variações espaciais na matriz orgânica mineral e no conteúdo orgânico relativo da dentina foram examinadas usando Espectroscopia Fourier Transformada em Infravermelho no Modo de Reflectância (FTIR). Os padrões do FTIR processaram o conteúdo mineral e de proteínas e os dados foram passados para um software comercial. Desta maneira, foi possível observar uma região entre as cúspides com 20% a mais de colágeno proporcional ao conteúdo total mineral. Além disso, foi observado mais de 15% de redução no conteúdo de colágeno relativo da dentina superficial para o interior. Isso causa maior fragilidade do tecido e conseqüentemente reduz a resistência. Assim, observou-se dentina profunda com módulo de elasticidade mais baixo, menor resistência mecânica, tensão crítica reduzida, e menor energia de fratura em relação à dentina superficial. Não houve diferença estatística nas amostras, com ou sem as endentações. A dentina superficial entre cúspides mostrou um conteúdo de colágeno menor em proporção ao conteúdo mineral total que a dentina profunda. Além disso, os autores verificaram que a região com a menor proporção de colágeno e mineral (dentina superficial) mostrou maior resistência, tensão crítica e energia de fratura que a dentina profunda.

Em 2011, Soares *et al.*, questionaram sobre as propriedades mecânicas do dente submetido à radioterapia. Com este tratamento, tais propriedades seriam

alteradas com quebra da molécula de água durante a radiação, resultando na formação de radicais livres oxidantes e desnaturantes dos componentes orgânicos da estrutura dentária. Assim, o enxague bucal com clorexidina e flúor poderiam manter as propriedades mecânicas do esmalte e da dentina submetidos ao tratamento de radiação gama. O estudo foi realizado *in vitro* com uso de terceiros molares extraídos radiados e não radiados (controle), subdivididos de acordo com um protocolo de enxague durante radiação: 0,05% fluoreto de sódio, 0,12% clorexidina e grupo controle (sem enxague) feitos antes e após a radiação. As amostras foram irradiadas com 60Gy de radiação gamma fracionados em 2 Gy/dia (90s), 5 dias/semana, num total de 6 semanas. Para realização do teste de microtração, foram feitos os preparos das amostras em forma de ampulheta, e divididos para análise da dentina coronária média, dentina radicular e esmalte oclusal médio. Desta maneira o feixe de radiação foi emitido perpendicularmente aos túbulos e prismas e em outros grupos paralelamente. As médias de resistências à microtração foram registradas e algumas amostras analisados em microscopia eletrônica de varredura. Dentre os resultados, a radiação gamma diminuiu significativamente a resistência de união do esmalte, da coroa e da dentina radicular independente da orientação dos prismas e túbulos. A resistência de união do esmalte não irradiado não foi alterada independente do enxaguatório usado. Dentina coronária não irradiada não foi afetada pelo tipo de enxaguatório usado. Para a dentina radicular, o tipo de enxaguatório usado não influenciou na resistência de união do grupo irradiado. Apenas houve influência quanto à posição dos túbulos, que mostraram maiores resistências de união quando testados na

sua posição perpendicular, como também ocorreram na dentina coronária. Nesta, o enxaguatório com clorexidina 0,12% preveniu parcialmente os danos às propriedades mecânicas da dentina coronária irradiada. Isso ocorreu provavelmente porque a clorexidina 0,12% se ligou as fibrilas colágenas, mantendo sua estrutura e preservando a camada híbrida. Ela também manteve suas propriedades morfológicas preservando a degradação do colágeno na dentina, ao contrário do esmalte, que possui baixo conteúdo de matriz orgânica e colágeno. Nada ocorreu na dentina radicular, provavelmente porque tanto a clorexidina, como o flúor, não foram capazes de alcançar esta região em quantidades suficientes porque esta parte estava embebida em material elastomérico.

Em 2011, Walker *et al.* realizaram um estudo abordando uma nova maneira de avaliar o impacto da radioterapia quanto à dose e danos causados na dentição de pacientes com câncer de cabeça e pescoço. O objetivo foi avaliar a severidade das lesões dentais pós-irradiação e a possibilidade de correlacioná-las com a dose de radiação recebida em cada dente. Primeiramente, foram avaliados vários fatores na influência da lesão cáries como a presença da xerostomia, frequência de aplicação de flúor, higiene oral, entre outros, em complemento ao cálculo da dose cumulativa determinada para cada coroa dentária irradiada. E para finalizar, um dentista classificou o estado de cada dente usando um índice previamente validado. Até então, este estudo foi o primeiro a calcular a dose de radiação individual do dente para correlacioná-lo com os danos causados pela radioterapia.

Os resultados mostraram dano mínimo com radiação abaixo de 30Gy, mais especificamente abrangendo limiar das glândulas salivares, uma dose-resposta bem maior para entre 30 e 60Gy também relacionado a danos às glândulas salivares e um mais limiar crítico de danos com 60Gy ou mais de radiação, este é relacionado com efeitos diretos na estrutura dentária. Com isso, foi ressaltada a importância do uso de fluoretos frequentemente e uma correta higiene oral, incluindo o fio dental e escovas interdentais, na tentativa de minimizar os danos relacionados à radioterapia.

Em 2012, Raposo *et al.*, realizaram um estudo para avaliando o efeito do dispositivo de tração, a geometria da amostra, método de fixação quanto à resistência de união, modo de falha, distribuição de estresse em relação ao método de fixação e distribuição de estresse usando um sistema adesivo convencional de dois passos à dentina humana. Alguns fatores podem influenciar no resultado final da microtração, como por exemplo, o alinhamento final para o teste, uma vez que se desalinhado pode ocorrer distribuição não uniforme do estresse durante o teste. Para que isso não ocorra, há o dispositivo de Geraldeli, e posteriormente foi desenvolvido outro dispositivo de “Dricks”. Outro fator que requer atenção é o tipo de cianocrilato usado com intuito de não induzir estresse residual nas amostras. Outros parâmetros relevantes envolvem o tipo de armazenagem, método de preparo do substrato, geometria de encaixe do espécime, espessura do adesivo, variação do ângulo de união, velocidade de aplicação da carga, enfim todos responsáveis por variações nos resultados. Para

análise dos elementos finitos, foi usado um software CAD para confecção de um modelo tridimensional dos dispositivos. O dispositivo de Geraldeli foi definido usando uma amostra em forma de palito e o de Dircks em forma de ampulheta. Para a amostra na forma de palito testado no dispositivo de Geraldeli, uma concentração mínima de estresse foi observada nas regiões coladas com cianocrilato. As amostras mostraram distribuição de estresse não uniforme com maior concentração de estresse na superfície posterior. Por outro lado, as amostras em forma de ampulheta apresentaram melhor distribuição de estresse devido ao seu formato transversal cilíndrico e a região “gage” paralela, distribuindo melhor a carga na camada adesiva, uma vez que o estresse é distribuído igualmente na periferia, enquanto as amostras retangulares, o estresse fica concentrado nas “quinas”. Além disso, o cianocrilato também contribui para variação na resistência de união, já que ele deveria colar a amostra no dispositivo com resistência maior do que a da interface material/dente. Além disso, sabe-se que a dureza do cianocrilato pode provocar estresse nas amostras mesmo antes do teste iniciar. Os autores concluíram que as amostras requerem aplicações de cola repetidas vezes para o sucesso do teste de tração. O tipo de dispositivo tem influência direta no teste, já que os modelos ideais de amostras apresentaram distribuição de estresse uniforme.

### 3 – PROPOSIÇÃO

O propósito neste estudo foi avaliar o efeito da radioterapia na interface de união dentina humana – adesivo - compósito Filtek Z250 fotoativado, através do ensaio de resistência de união à microtração ( $\mu$ TBS) nas seguintes variáveis:

1 – Dois sistemas adesivos: Adper Scotchbond Multi-Purpose e Clearfil SE Bond.

2 – Superfície da dentina: com ou sem aplicação do antimicrobiano Doxíciclina.

3 – Radiação: 60 Gy de irradiação, fracionados em doses diárias de 2Gy durante 5 dias por semana, num total de 6 semanas.

Além disso, foi realizada a análise do padrão de fratura em lupa estereoscópica.

As hipóteses testadas neste estudo foram: (1) a radiação não influenciaria na resistência de união; e, (2) o uso da Doxíciclina auxiliaria na preservação da resistência de união, quando aplicada previamente ao procedimento adesivo; e, (3) os sistemas adesivos apresentariam resultados semelhantes na resistência de união à microtração.

## 4 - MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo *in vitro* foi realizado com delineamento experimental realizado de acordo com o organograma da Figura 1.

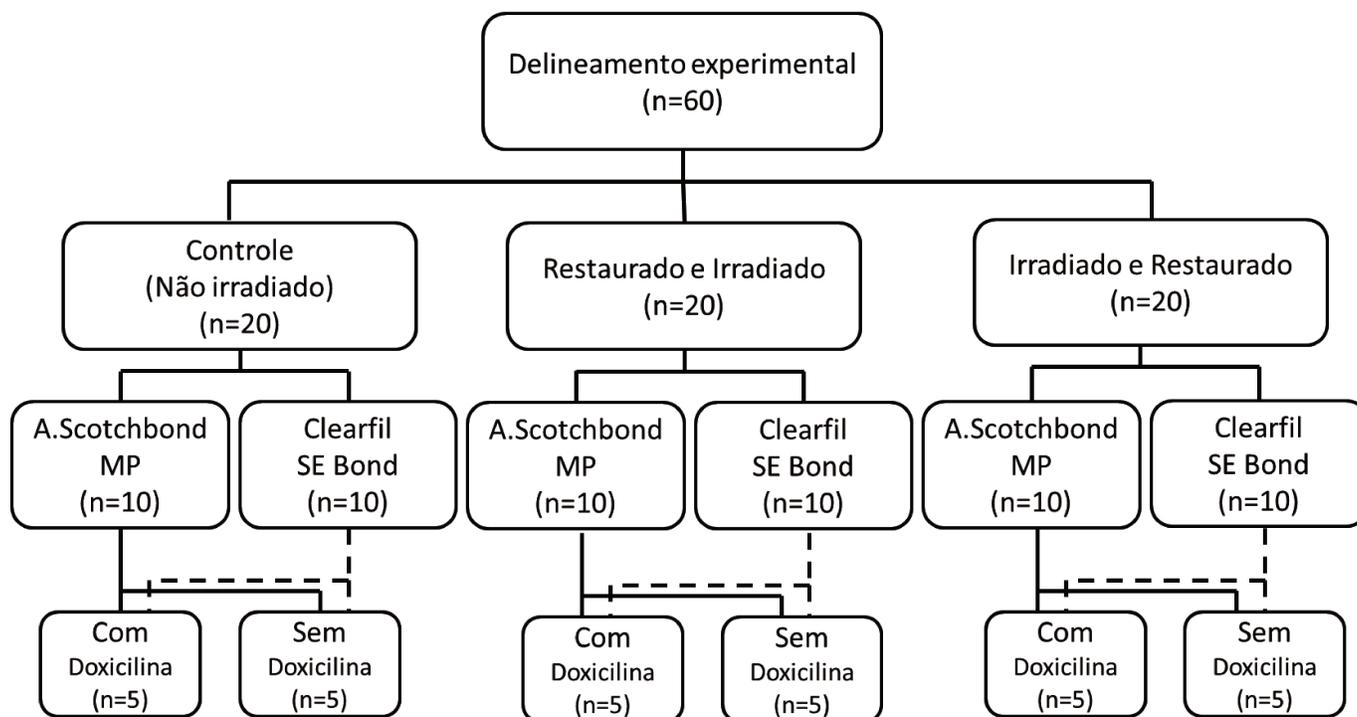


Figura 1– Organograma da divisão dos grupos para o ensaio de resistência à de união à microtração ( $\mu$ TBS).

Os critérios estabelecidos para a resolução deste estudo estão de acordo com as normas da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e com o Código de Ética Profissional Odontológico, segundo resolução CFO 179/91. Antes da coleta dos dados, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, com parecer favorável 146/2011, em anexo.

#### 4.1 – Materiais

Neste estudo foram utilizados dois sistemas adesivos e uma resina composta indicada para confecção de restaurações em dentes anteriores e posteriores, de acordo com o Quadro 1.

Quadro 1 – Materiais utilizados no estudo e protocolo de aplicação.

MATERIAS	COMPOSIÇÃO	PROTOCOLO DE APLICAÇÃO
Sistema adesivo Clearfil SE Bond – Kuraray Co. Osaka-Japão.	Primer ácido: MDP, HEMA, Dimetacrilatos, hidrófilos, Canforoquinona, N, N Dietanol p-toluidina, Água.  Adesivo: MDP, HEMA, Bis-GMA, Dimetacrilatos hidrófobos, N, N Dietanol p-toluidina, Canforoquinona, Sílica Cloidal.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Secar a superfície da dentina;</li> <li>- aplicar o primer por 20s, com auxílio de pincel tipo <i>microbrush</i>;</li> <li>- leve jato de ar para a volatilização do solvente por 5 segundos;</li> <li>- aplicar o sistema adesivo;</li> <li>- fotoativar por 10 s, com o aparelho UltraLume 5.</li> </ul>
Sistema Adesivo Scotchbond Multi-Purpose – 3M EXPE, St. Paul, MN, USA	Primer e adesivo - Solução aquosa de 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA) e um copolímero do ácido polialcenóico	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Condicionar a superfície da dentina com ácido fosfórico a 35%, por 15 s;</li> <li>- lavar com água por 15 s;</li> <li>- remover o excesso de umidade da superfície com papel absorvente;</li> <li>- aplicar uma camada de primer, seguido de leve jato de ar, por 5 s;</li> <li>- aplicar uma camada do sistema adesivo e fotoativar por 10, com o aparelho UltraLume 5.</li> </ul>
Resina Composta Filtek Z250 (cor A3) – 3M ESPE, St. Paul, MN, USA.	Bis-GMA, Bis-EMA, UDMA, Carga inorgânica-Zircônia (60% em volume).	Aplicar dois incrementos de aproximadamente 2 mm e fotoativar cada incremento com o aparelho UltraLume 5, por 20 s.



Figura 2 - Materiais utilizados para a confecção das amostras. Ácido fosfórico 35% (3M ESPE); Resina composta restauradora universal Filtek Z250 (3M ESPE); Pincéis descartáveis aplicadores *Microbrush*; Sistema Adesivo Clearfil SE Bond (Kuraray); e, Sistema Adesivo Adper Scotchbond MP (3M ESPE).

## 4.2 – Método

### 4.2.1 - Seleção e Preparo dos Dentes

Foram coletados sessenta terceiros molares humanos superiores e inferiores hígidos, obtidos de pacientes que procuraram atendimento em clínica particular por necessidade de realização de tratamento odontológico, sendo submetidos à exodontia em função do diagnóstico realizado pela cirurgiã-dentista. Os molares coletados pertenciam a indivíduos na faixa etária de 18 anos a 35 anos, sendo estimados 50% do gênero masculino e 50% do feminino aproximadamente. Os dentes selecionados apresentavam ausência de cárie e restaurações.

Antes da armazenagem, os dentes foram limpos manualmente com curetas periodontais Gracey (Hu-Friedy Co., Chicago, IL, EUA), a fim de remover debris orgânicos e inorgânicos. Em seguida, polidos em baixa rotação com escova tipo Robson (Roda, Microdont Ltda., São Paulo, SP, Brasil), embebida em pasta de pedra pomes extra-fina (Asfer Indústria Química Ltda., São Caetano do Sul, SP, Brasil) e água, durante 10 segundos. A escova foi substituída a cada cinco dentes. Todos os dentes foram então enxaguados e armazenados em água destilada na temperatura de -4°C, por um período máximo de 3 meses.

Para o desgaste do esmalte e exposição da dentina média superficial, os dentes foram submetidos ao desgaste e polimento, com lixas de carbetto de silício de granulação 180, 320 e 600 (Carborundum Abrasivos, Recife, PE, Brasil) na politriz APL-4 (Arotec, Cotia, SP, Brasil), sob refrigeração com água (Figura 3). Este procedimento foi realizado antes do tratamento de superfície da dentina e aplicação dos sistemas adesivos, com os dentes posicionados perpendicularmente à superfície oclusal desgastada.



Figura 3 – Exposição da dentina média.

Após, os dentes foram fixados numa base de acrílico com cera pegajosa em bastão (Asfer Indústria Química Ltda., São Paulo, SP, Brasil) posicionando o longo eixo paralelo à superfície da placa. A raiz foi seccionada 2 mm abaixo da junção cimento-esmalte, com auxílio do disco diamantado dupla face (EXTEC Corporation, Enfield, CT, USA) acoplado à cortadeira Isomet 1000 (Buehler Ltda., Lake Bluff, Illinois, USA).

Em seguida, o tecido pulpar foi removido com colher de dentina (Escavadores Duflex, S.S White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e a câmara coronária pulpar condicionada com ácido fosfórico a 35% (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) por 15 segundos, lavada por 15 segundos e seca por 2 segundos com jato de ar. O sistema adesivo Clearfil SE Bond (Kuraray Medical Inc., Tokio, Japão) foi aplicado de acordo com as recomendações dos fabricantes (Quadro 1). O compósito Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) foi inserido na câmara pulpar em incrementos de aproximadamente 2 mm, sendo que cada incremento foi fotoativado com o aparelho LED UltraLume 5 (Ultradent, South Jordan, UT, USA), por 40 s.

As coroas dentárias foram aleatoriamente distribuídas em três grupos (n=20), de acordo com o sistema adesivo, com ou sem aplicação do antimicrobiano doxiciclina e submetidos ou não a radioterapia (Tabela 1). Antes do procedimento restaurador, as coroas foram polidas com lixas de carbetto de silício de granulação 600 (Carborundum Abrasivos) sob constante irrigação com água, com a finalidade de simular a *smear layer* durante o preparo cavitário sobre a superfície dentinária.

Tabela 1 – Grupos de acordo com o sistema adesivo, com ou sem uso do antimicrobiano doxiciclina e submetidos ou não a radioterapia.

<b>GRUPOS</b>	<b>SISTEMAS ADESIVOS</b>	<b>ANTIMICROBIANO DOXICICLINA</b>	<b>RADIAÇÃO</b>
<i>Controle</i>	Adper Scotchbond Multi-Purpose	Com	Sem
		Sem	Sem
	Clearfil SE Bond	Com	Sem
		Sem	Sem
<i>Relrr</i>	Adper Scotchbond Multi-Purpose	Com	60 Gy
		Sem	60 Gy
	Clearfil SE Bond	Com	60 Gy
		Sem	60 Gy
<i>IrrRe</i>	Adper Scotchbond Multi-Purpose	Com	60 Gy
		Sem	60 Gy
	Clearfil SE Bond	Com	60 Gy
		Sem	60 Gy

#### 4.2.2 – Confeção das amostras e radioterapia

Os grupos Controle (C) sem radiação; Restaurado e Irradiado (Relrr), irradiado após a confecção do bloco de resina; e, Irradiado e Restaurado (IrrRe), irradiado antes da confecção do bloco de resina foram subdivididos em 2 subgrupos (n=10) de acordo com o sistema adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE) ou Clearfil SE Bond (Kuraray). Cada grupo do sistema adesivo foi novamente subdividido em 2 subgrupos (n=5) com aplicação da doxiciclina (CD) ou sem aplicação da doxiciclina(SD).

*Grupo Controle (sem irradiação):* inicialmente as amostra foram submetidas ao condicionamento com ácido fosfórico 35% (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) (Figura 4.1), por 15 s, lavados por 15s e secos com papel absorvente (Figura 4.2), mantendo a dentina úmida. Metade das amostras (n=5) de cada sistema adesivo recebeu tratamento com o antimicrobiano Doxiciclina, o qual foi aplicado com auxílio de uma micropipeta monocanal de volume variável (HTL-STREFA, Inc., Marietta, GA, EUA) calibrada para deposição de 20 µL (Figura 4.3) e espalhado com aplicadores descartáveis (*Microbrush*, Vigodent) por alguns segundos (Figura 4.4), deixado agir durante 5 minutos e removida com papel absorvente, mantendo a dentina visivelmente úmida.

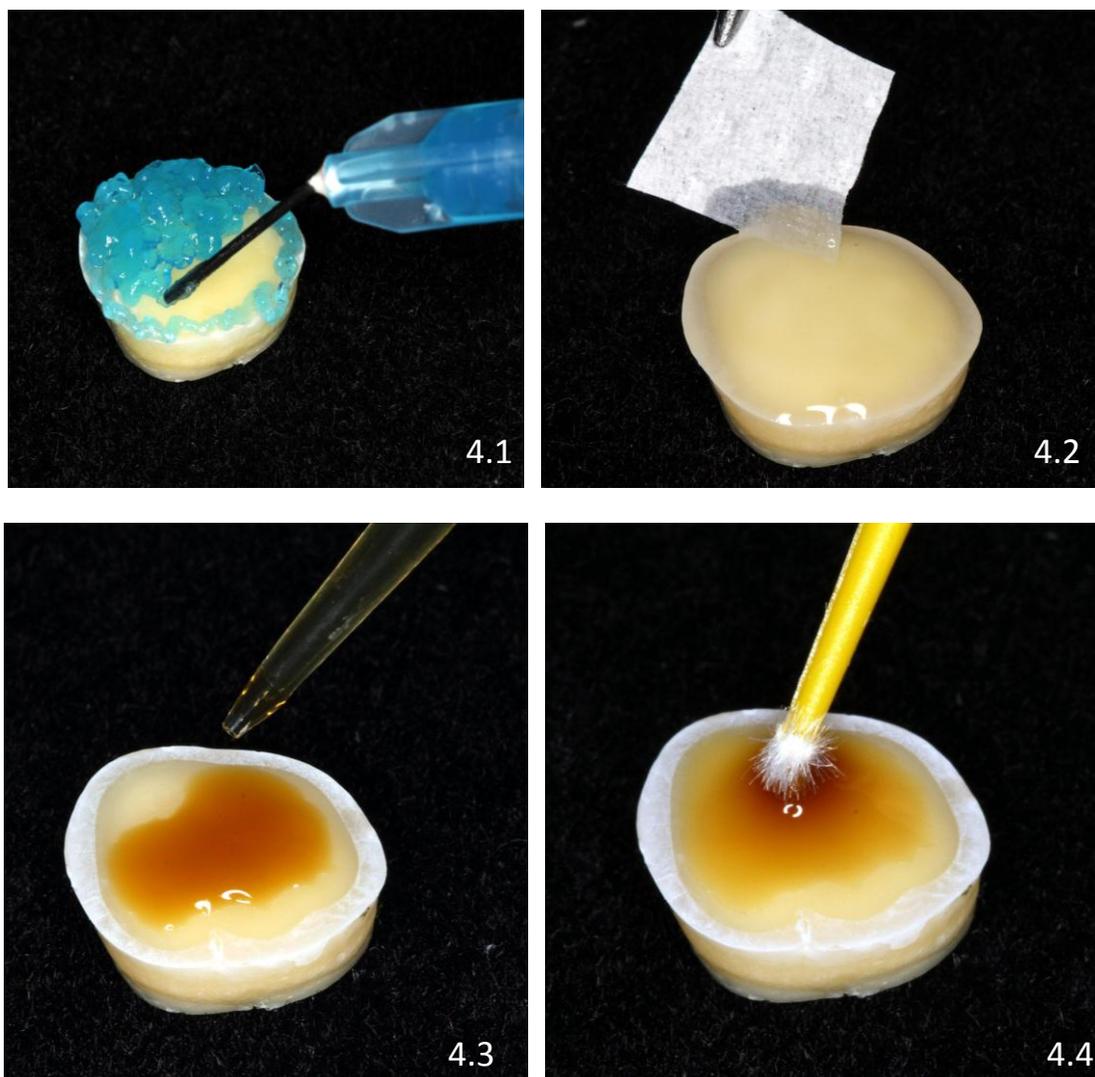


Figura 4 - Preparo das amostras: (4.1) Condicionamento da superfície da dentina com ácido fosfórico 35%; (4.2) Remoção do excesso de umidade com papel absorvente; (4.3) Aplicação da Doxiciclina 100mg/ml com auxílio de micropipeta; (4.4) Aplicação da Doxiciclina em toda a superfície dentinária com auxílio do pincel *Microbrush*, mantida por 5 minutos.

Em seguida, foram aplicados os sistemas adesivos (Figura 5.1) de acordo com as recomendações dos respectivos fabricantes (Tabela 1) em todas as

amostras e fotoativado por 10 s com o aparelho UltraLume 5 (Ultradent) (Figura 5.2). Um bloco do compósito Filtek Z250 (3M ESPE) foi construído sobre a superfície dentinária com 2 incrementos de 2 mm e 1 de mm (Figura 5.3), até atingir a altura de 5 mm (Figura 5.4), sendo que cada incremento foi fotoativado, por 40 s com o aparelho LED UltraLume 5 (Ultradent), com intensidade de 1000 mW/cm<sup>2</sup>, aferido periodicamente com o radiômetro (Ophir Optronics Inc., Danvers, MA, USA).

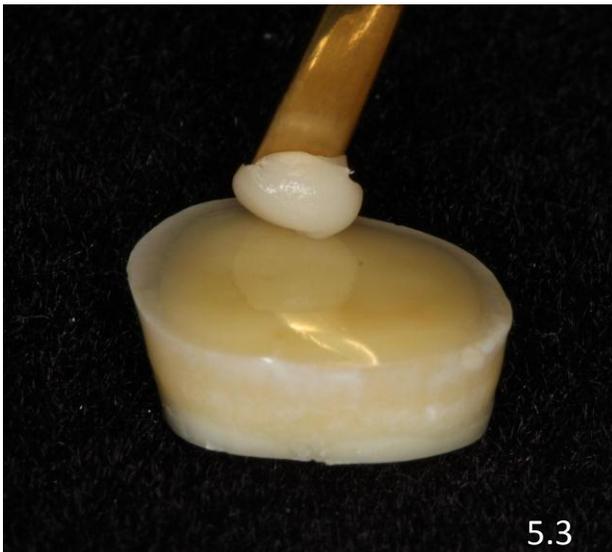
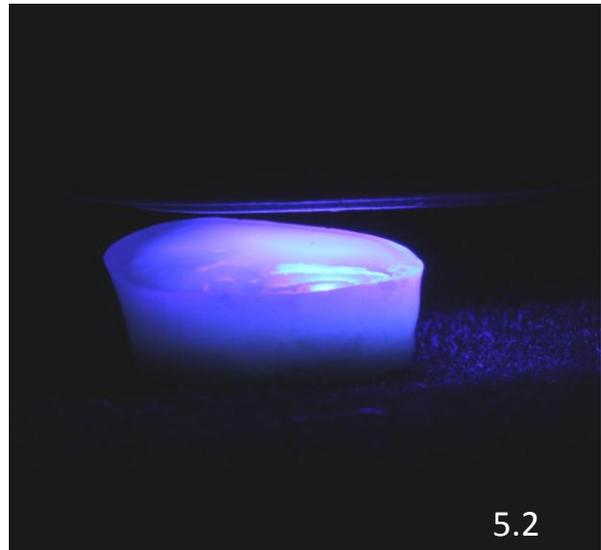
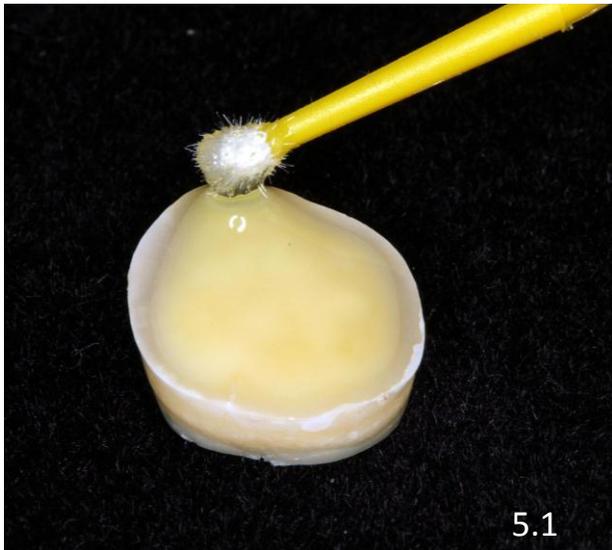


Figura 5 - Preparo das amostras: (5.1) Aplicação do sistema adesivo Adper Scotchbond MP; (5.2) Fotoativação por 10 s; (5.3) Aplicação do compósito em incrementos e fotoativado por 40 s; e, (5.4) Amostra finalizada para confecção dos palitos.

Grupo Restaurado e Irradiado – (*Relrr*): O mesmo procedimento do Grupo Controle foi adotado para a confecção dos blocos de compósito sobre a superfície das coroas dentárias. Após a confecção, as amostras foram submetidas à dose total de 60 Gy de radiação, fracionadas em 2 Gy diários, durante 5 dias por semana, num total de 6 semanas (Figura 6.1).

Grupo Irradiado e Restaurado - (*IrrRe*): antes da confecção dos blocos de compósito, as coroas dentárias foram submetidas a 60 Gy de radiação, fracionados em 2 Gy diários, durante 5 dias por semana. Após as coroas dentárias serem irradiadas, o mesmo procedimento feito no Grupo Controle foi adotado para a confecção dos blocos de compósito sobre a superfície das coroas dentárias.

Os procedimentos de radiação das amostras foram realizados no Hospital dos Fornecedores de Cana (Piracicaba, SP), no Departamento de Radioterapia, usando feixe de fótons de Rx de 6 MV de energia, gerado por Acelerador Linear de Elétrons (Varian, modelo 6/100, Connecticut, Estados Unidos) com a dose de 60 Gy dividida em 30 frações de 2 Gy (Figura 6.2). Todos os protocolos e procedimentos de segurança foram seguidos e o processo de radiação foi similar ao realizado em pacientes sob tratamento oncológico. Após cada radiação, as amostras foram armazenadas em água destilada em estufa de cultura (Modelo 002 CB Fanem Ltda., São Paulo, SP, Brasil) a 37° C por 24 horas.

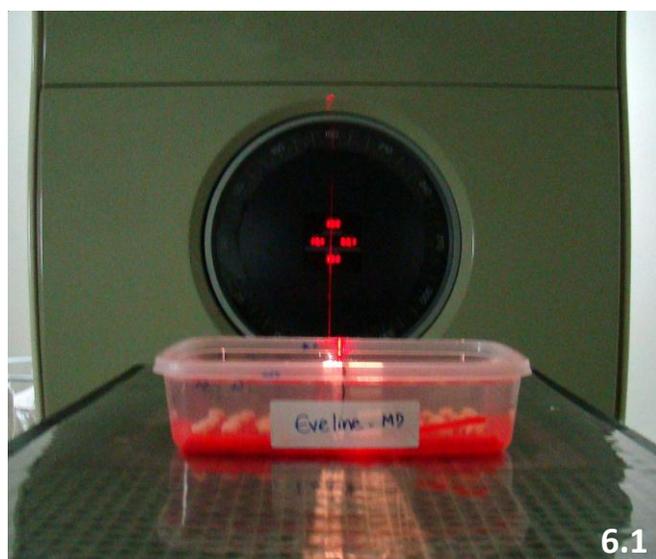


Figura 6 – (6.1): Amostras posicionadas para receber a radiação; (6.2): Amostras após a radiação no Acelerador Linear de Elétrons.

#### **4.2.3 – Preparo das amostras para ensaio de resistência de união à microtração**

Decorrido o período de armazenagem, as amostras foram seccionadas em cortadeira metalográfica Isomet 1000 (Buehler Ltda., Lake Bluff, Illinois, USA) utilizando disco de dupla-face (EXTEC Corporation, Enfield, CT, USA) sob refrigeração com água para remoção da raiz, antes utilizada para a fixação dos amostras. As amostras foram fixadas em uma base de acrílico com cera pegajosa em bastão ( Asfer Indústria Química Ltda., São Paulo, SP, Brasil), de acordo com a Figura 7.1, e seccionados nos planos X e Y em ângulo de 90 graus entre os cortes para obter amostras em forma de palito (Figuras 7.2 e 7.3), com aproximadamente 1 mm<sup>2</sup> de área de união (Figura 7.4). Os palitos foram armazenados em *ependorf* com água destilada, por 24 horas a 37<sup>o</sup> C.

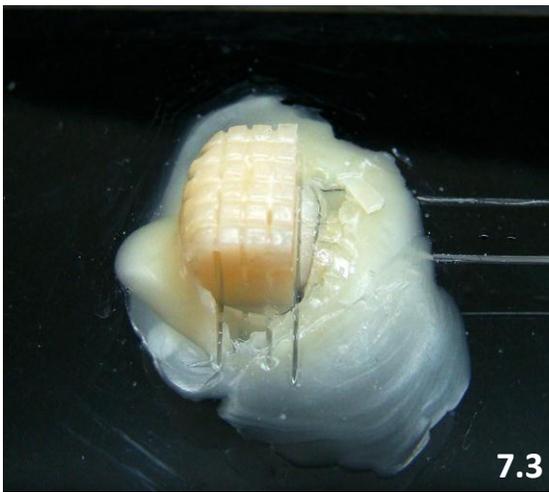
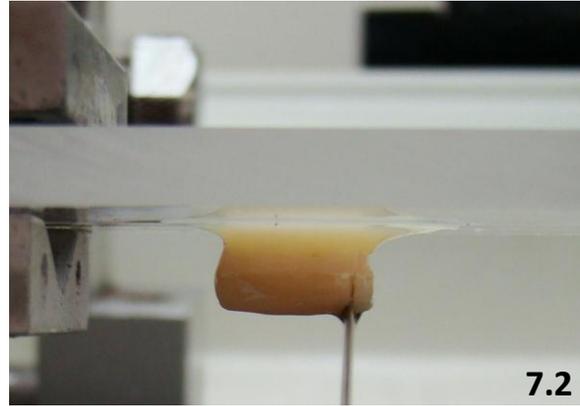
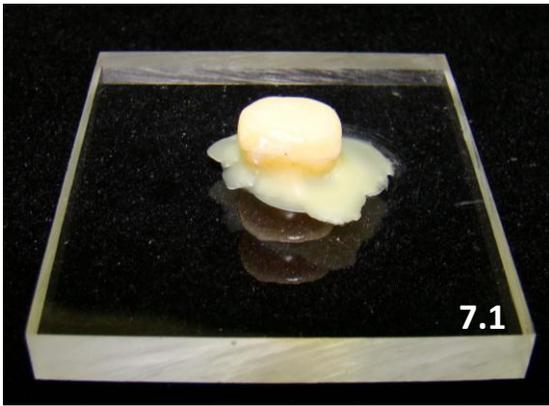


Figura 7 – Preparo das amostras para o ensaio de microtração: (7.1) Fixação da amostra com cera pegajosa na placa de acrílico; (7.2) Cortes perpendiculares e transversais na superfície de união com disco diamantado dupla face; e, (7.4) Amostra em forma de palito com 1 mm<sup>2</sup> de área de união.

#### 4.2.4 - Ensaio de Resistência de União à Microtração

Decorrido o período de armazenagem, os palitos foram fixados com adesivo de cianoacrilato (Super Bonder Power FlexGel, Loctite Ltda, São Paulo, SP, Brasil) e acelerador de cura instantânea (Loctite Tak Pak Accelerator, Henkel Corporation, Rocky Hill, Connecticut, EUA), em dispositivo para microtração mantendo livre a interface adesiva (Figura 8.1). Este dispositivo foi fixado na máquina de ensaio Ez- Test (EZS, Shimadzu, Tóquio, Japão), com velocidade constante de 0,5 mm/min até ocorrer fratura (Figura 8.2). Os valores máximos de resistência da união em quilograma-força (kgf) foram registrados no momento da fratura. Para o total de 12 grupos, cada grupo era composto por 5 dentes, cada dente gerou uma média de 12 palitos, para um total de 60 palitos por grupo.

Após o ensaio, as duas partes fraturadas foram removidas do dispositivo e a área da secção transversal de cada amostra foi medida com auxílio de paquímetro digital (Mitutoyo Measuring Instruments, Suzhou P.R., China). Os valores obtidos para os cálculos da resistência de união foram em MPa, de acordo com a seguinte fórmula:

$$R_t = F/A \times 0,098$$

Onde:

*R<sub>t</sub>* - resistência de união à microtração (MPa)

*F* - força aplicada no ensaio de microtração (kgf)

*A* – área de união das amostras em mm<sup>2</sup> / 100 = (cm<sup>2</sup>).

Os valores obtidos em MPa correspondem ao valor de resistência de união de cada amostra testada.



Figuras 8 – Ensaio de resistência à microtração: (8.1) Amostra submetida ao ensaio de resistência de união à microtração; e, (8.2) Amostra fraturada.

#### **4.2.5 - Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura**

Algumas amostras extras foram usadas para análise da superfície de dentina antes e após a radioterapia, com e sem o tratamento prévio de superfície com Doxiciclina em microscópio eletrônico de varredura (MEV; LEO 435 VP, Cambridge, England).

O conjunto foi posicionado no metalizador a vácuo (Dentun Vaccun Desk II: Dentun Vaccum LLC, Moorestown, NJ, USA), cujo cilindro contém uma placa de ouro em sua parte superior. Esse cilindro de vidro forma uma câmara que é fechada hermeticamente e conectada a bomba de vácuo, produzindo vácuo na ordem de  $10^{-1}$  mmHg. A câmara em conexão com um reservatório de Argônio substitui o ar, criando uma atmosfera desse gás estabelecendo entre a amostra e a placa de ouro uma diferença de potencial suficiente para ionizar o gás. Os íons positivos bombardeiam a placa de ouro arrancando os átomos, que irão se depositar na superfície da amostra com espessura de aproximadamente 100-200 Å, o que corresponde a um período de “sputtering” de 2-3 minutos. Após a metalização as amostras foram examinadas no Microscópio Eletrônico de Varredura (LEO 435 VP, England), em alto vácuo, com aumentos de 1000X e 2000X.

#### **4.2.6 - Análise estatística**

Os dados foram avaliados quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e apresentaram distribuição normal ( $p > 0,05$ ). Em seguida, foram submetidos à Análise de Variância com 3 fatores (Irradiação - 3 níveis: Controle, Pré-irradiado e Pós-irradiado; Adesivo – 2 níveis: ScotchBond Multi-purpose e Clearfil SE Bond; Doxiciclina – 2 níveis: Com Doxiciclina e Sem Doxiciclina) e ao teste de Tukey, em nível de significância de 5%.

#### **4.2.7 - Análise do Padrão de Fratura**

A superfície de fratura das amostras foi observada em estereomicroscópio (Leica Mz 9.5, Heerbrug, Suíça) com 40x de aumento. O padrão de fratura foi classificado em: A – falha adesiva; CD – falha coesiva em dentina; CM – falha coesiva no material (compósito ou sistema adesivo); e M – falha mista (associação de dois ou mais modos de fratura coesiva ou adesiva).

A porcentagem de cada padrão de fratura foi calculada de acordo com a frequência observada em cada grupo experimental e analisada estatisticamente usando o teste de Fisher para comparação das porcentagens.

## 5 – RESULTADOS

### 5.1 – Resistência de união à microtração

A Tabela 2 mostra os resultados da Análise de Variância com três fatores. Os fatores “radiação” ( $p = 0,007$ ) e “Doxiciclina” ( $p < 0,001$ ) foram significativos, enquanto os fatores “sistema adesivo” ( $p = 0,957$ ) e interações ( $p = 0,465$ ) não foram significativos.

Tabela 2 - Análise de Variância.

Variação	GL	SQ	QM	F	P
Radiação	2	5,724	2,862	5,566	0,007
Adesivo	1	0,00153	0,00153	0,00297	0,957
Doxiciclina	1	20,389	20,389	39,648	< 0,001
Radiação x Adesivo	2	1,823	0,911	1,772	0,181
Radiação x Doxiciclina	2	2,537	1,269	2,467	0,096
Adesivo x Doxiciclina	1	1,493	1,493	2,902	0,095
Radiação x Adesivo x Doxicic	2	0,801	0,401	0,779	0,465
Residual	47	24,170	0,514		
Total	58	55,936	0,964		

A Tabela 3 mostra que não houve diferença estatística entre os sistemas adesivos Adper Scotchbond Multi-purpose e Clearfil SE Bond ( $p > 0,05$ ). A

resistência de união foi significativamente superior nas amostras sem aplicação da Doxiciclina, quaisquer que fossem as demais condições ( $p < 0,05$ ). As amostras que foram IrrRe (restaurados após a radiação) apresentaram os menores valores de resistência de união à microtração, diferindo estatisticamente do grupo que foi Relrr (restaurados antes da radiação) e ao grupo Controle (sem irradiação) ( $p < 0,05$ ), independente do uso ou não da Doxiciclina. Nenhuma diferença estatística foi observada entre o grupo Controle e as amostras Relrr ( $p > 0,05$ ).

Tabela 3 - Médias da resistência de união à microtração (MPa) para os dois sistemas adesivos, radiação e doxiciclina.

Adesivo	Radiação	Médias da resistência de união (MPa)		Médias da resistência de união (MPa)
		Sem Doxiciclina (33,6 ± 8,6) A	Com Doxiciclina (21,7 ± 7,6) B	
Adper ScotchBond (25,5 ± 11,1)*	Controle	42,0±8,8 aA	22,8± (5,7) aB	Controle (30,5±10,9) a
	Relrr	36,6±8,2 aA	20,5± (8,6) aB	Relrr (29,2±10,4) a
	IrrRe	28,2±5,7 bA	17,6± (8,0)bB	
Clearfil SE (27,6 ± 9,1)*	Controle	37,7±7,2 aA	21,6± (6,2) aB	IrrRe (23,1±7,2) b
	Relrr	34,7±2,3 aA	28,0± (10,1) aB	
	IrrRe	23,8±7,4 bA	20,0± (5,6) bB	

Médias seguidas por letras distintas minúsculas na coluna e maiúsculas em linha apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). \*Representa ausência de diferença estatística significativa entre os sistemas adesivos ( $p > 0,05$ ).

## 5.2 - Análise do Padrão de Fratura

Os resultados dos padrões de fratura estão apresentados na Tabela 4 e Figura 9. Fraturas predominantemente mista foram observadas nas amostras do grupo Controle, para o sistema adesivo Adper Scotchbond MP sem Doxiciclina e

Clearfil SE Bond com Doxíciclina. Falhas adesivas foram verificadas no sistema adesivo Adper Scotchbond MP com Doxíciclina e Clearfil SE Bond sem Doxíciclina. Para as superfícies IrrRe houve predomínio de falhas coesivas em dentina para os dois sistemas adesivos, com ou sem aplicação da Doxíciclina. Falhas mistas foram mais frequentes nas superfícies Relrr para o sistema adesivo Adper Scotchbond MP, com ou sem aplicação da Doxíciclina e para o sistema adesivo Clearfil SE Bond, sem Doxíciclina.

Tabela 4 – Padrão de Fratura das amostras (%).

Grupo			Padrão de Fratura (%)			
			<i>Adesivo</i>	<i>Coesivo em dentina</i>	<i>Coesivo em compósito</i>	<i>Mista</i>
Adper Scotchbond MP	Sem Doxíciclina	Controle (sem radioterapia)	23,7	15,3	6,7	54,3
		IrrRe	20,6	42,2	9,8	27,4
		Relrr	31,0	16,3	6,8	45,9
	Com Doxíciclina	Controle (sem radioterapia)	46,9	20,5	6,1	26,5
		IrrRe	30,8	38,5	5,1	25,6
		Relrr	21,4	21,4	2,8	54,4
Clearfil SE Bond	Sem Doxíciclina	Controle (sem radioterapia)	51,0	4,3	2,2	42,5
		IrrRe	21,3	42,5	8,5	27,7
		Relrr	35,2	12,7	8,5	43,6
	Com Doxíciclina	Controle (sem radioterapia)	37,2	4,3	5,7	52,8
		IrrRe	33,4	34,8	7,5	24,3
		Relrr	48,4	19,6	4,6	27,4

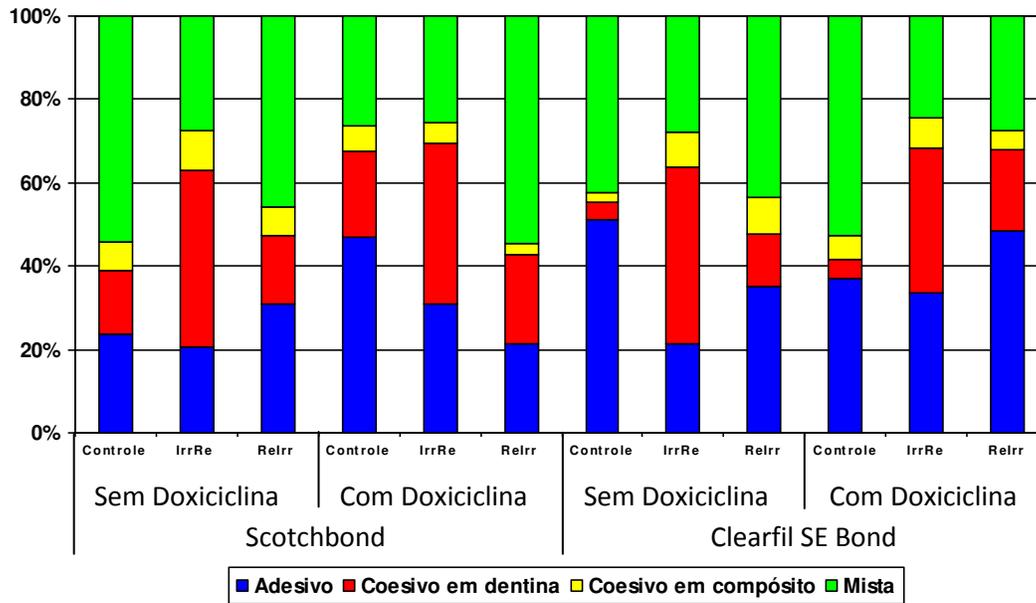


Figura 9 – Ilustração gráfica do padrão de fratura das amostras.

### 5.3 - Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura

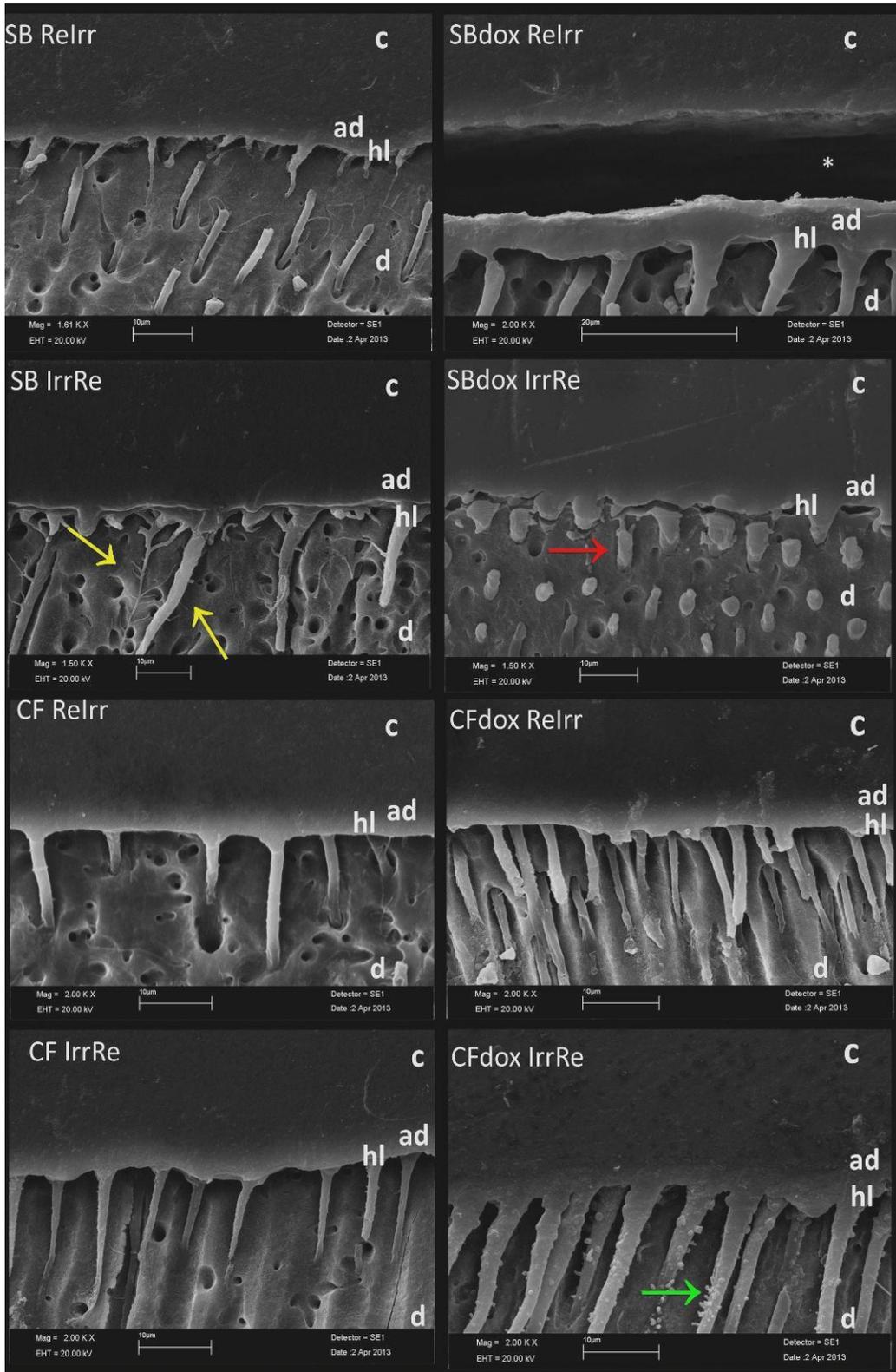


Figura 10 - Fotomicrografia da dentina submetida à radioterapia antes e após o tratamento restaurador com diferentes adesivos. c. Compósito; ad. Adesivo; hl. Camada híbrida; d. Dentina. Destaque para (\*) apontando ruptura do topo da camada híbrida, setas amarelas apontando *tags* e *microtags* resinosos, seta vermelha apontando *tags* resinosos com menor comprimento e seta verde destacando cristais de Doxiciclina aderidos aos *tags* resinosos. Aumento de 2000X.

As fotomicrografias mostram o tecido dentinário submetido à radioterapia antes do procedimento restaurador (grupos SB IrrRe, SB IrrRe, CF IrrRe, CFdox IrrRe), e submetido a radioterapia após o procedimento restaurador (grupos SB ReIrr, SBdox ReIrr, CF ReIrr e CFdox ReIrr). Foram observados o sistema adesivo auto-condicionante Clearfill SE Bond sem a aplicação de Doxiciclina (grupos CF IrrRe, CF ReIrr) e com a aplicação de Doxiciclina (CFdox ReIrr, CF dox IrrRe) e o sistema adesivo convencional Scotchbond Multi-Purpose sem a aplicação de Doxiciclina (SB ReIrr, SB IrrRe) e com a aplicação de Doxiciclina (SBdox ReIrr, SBdox IrrRe). É possível observar a formação de *tags* resinosos em todos os grupos, ruptura no topo da camada híbrida na fotomicrografia do grupo SBdox ReIrr e cristais de Doxiciclina no grupo CFdox IrrRe.

## 6 - DISCUSSÃO

Os resultados mostraram efeito negativo significativo da radiação empregada em procedimentos radioterápicos, somente na resistência de união à dentina que foi submetida à radiação antes da restauração (IrrRe), aceitando parcialmente a primeira hipótese. O grupo restaurado e irradiado (Relrr) e o grupo Controle apresentaram resistência de união à microtração estatisticamente superior ao grupo irradiado e restaurado (IrrRe) (Tabela 3). Estes resultados corroboram com os obtidos por Biscaro *et al.*, 2009 e Naves *et al.*, 2012, os quais mostraram redução na resistência de união de restaurações realizadas na superfície da dentina submetida ao tratamento radioterápico. Entretanto, discordam dos resultados obtidos por Gernhardt *et al.* (2001), onde a radiação da superfície da dentina (60 Gy), não mostrou diferença estatística na resistência de união em relação a dentina que não foi irradiada.

Por outro lado, a redução nos valores de resistência de união pode ter ocorrido, provavelmente devido à alteração do substrato induzida pela radiação, mostrado também em estudos prévios, os quais apontaram redução nas propriedades mecânicas e danos nas fibrilas colágenas da dentina (Cheung *et al.*, 1990; Davis, 1975; Franzel *et al.*; 2006; Kielbassa *et al.*, 1997). De acordo com Pioch *et al.*, 1992; Gernhardt *et al.*, 2001 e Soares *et al.*, 2011, a radiação pode causar danos especialmente na matriz orgânica dentinária. Segundo Soares *et al.* (2011) o colágeno dentinário das amostras irradiadas parece mais desorganizado em relação às amostras que não foram submetidas à radiação. Isto pode

prejudicar o condicionamento pelo ácido fosfórico (para o sistema adesivo A. Scotchbond MP), ou do *primer* condicionante (Clearfil SE Bond) para formação de camada híbrida adequada. Este fato provavelmente pode ser devido à inabilidade de penetração dos monômeros no colágeno desestruturado durante a formação da camada híbrida e consequente enfraquecimento desta. Além disso, segundo Jansma *et al.* 1990, os cristais de apatita dos tecidos dentais incorporam sódio, carbonato e magnésio durante a formação do tecido. Quando esses cristais são submetidos à radiação, estes defeitos pontuais poderiam ser mobilizados da camada de superfície dos cristais, removendo esses íons aprisionados e consequentemente promovendo modificação da estrutura dos cristais e interferindo potencialmente no procedimento de adesão.

Em corroboração com os resultados obtidos neste estudo *in vitro*, Fränzel *et al.*, 2005 e Soares *et al.*, 2010 mostraram que a dentina do dente humano após ser irradiada promoveu redução com diferença estatística na microdureza e elasticidade, além de danos na matriz orgânica. Este resultado também foi visível ao correlacioná-lo à análise do padrão de fratura das amostras irradiadas e posteriormente restauradas (IrrRe). Os dados da Tabela 4 e Figura 9 mostram média de 42% de falhas coesivas na dentina para os dois sistemas adesivos com e sem Doxiciclina para as amostras submetidas à radiação e depois restauradas (IrrRe). Isso sugere possível fragilidade da dentina irradiada com efeito direto na redução da resistência mecânica no teste de microtração, quando fraturou antes da interface adesiva ou do compósito irradiado. Contudo, existem estudos que não

apresentaram variação das propriedades mecânicas da dentina e seus constituintes após o procedimento de radiação (Springer *et al.*, 2005).

Além disso, os resultados controversos verificados na literatura podem estar relacionados às variáveis como dificuldade da simulação de estudos *in vitro* em relação aos estudos em *in vivo*, como por exemplo, ausência de vitalidade pulpar (Gernhardt *et al.*, 2001), pois quando o estudo é realizado *in vitro*, não seria possível verificar alterações morfológicas na estrutura dentinária. Deste modo, os estudos realizados *in vitro* seriam menos representativos quanto às características da radiação em relação aos estudos realizados *in vivo* (Grötz, 1999). Porém, os estudos *in vitro* seriam mais bem padronizados não interferindo na análise estatística, pois não sofreria influência de fatores como dieta, higienização dentária e colaboração do paciente. Por outro lado, existe a necessidade de avaliar possíveis protocolos clínicos, antes de serem aplicados de fato, com intuito de colaborar com qualquer que seja o tratamento proposto.

Quando foram comparados os grupos irradiados, verifica-se que os grupos restaurados após a radiação (IrrRe) apresentaram valores de resistência de união à microtração menores que o grupo restaurado e irradiado (Relrr) (Tabela 3). A principal diferença entre os grupos foi o momento de hibridização da camada sob o compósito, o que sugere provavelmente que o estabelecimento da união antes do procedimento de radiação da dentina forma uma camada híbrida mais estável em relação a união realizada em superfícies de dentina irradiadas antes de inserir o compósito. Isso também foi visível ao correlacioná-la à análise do padrão de fratura das amostras irradiadas, onde ocorreu padrão de fratura

misto para as amostras restauradas e irradiadas (Relrr), exceto para o Clearfil SE Bond com doxiciclina e fraturas coesiva em dentina para as amostras irradiadas e restauradas (IrrRe) (Tabela 4 e Figura 9). De acordo com Pioch *et al.*, 1992, a redução na estabilidade estrutural após a dentina ser irradiada é um fator importante e provavelmente teria influência direta no processo de união. Esta alteração estrutural segundo a teoria proposta por Pioch *et al.* (1992), supõe ocorrência de provável radiólise da água com alteração nas propriedades mecânicas da estrutura dentária durante a radioterapia e consequente formação de radicais livres oxidando e desnaturando os componentes orgânicos da estrutura dentária. Isto pode ter ocorrido nas amostras irradiadas antes da restauração, pois as amostras estavam imersas em água deionizada durante a radiação e, de alguma forma, esses efeitos deletérios podem ter sido minimizado na dentina hibridizada.

A aplicação da Doxiciclina na concentração de 100mg/ml (Demirel *et al.*, 1991; Rahmat *et al.*, 2004; Ciotti, 2004) por 5 minutos não preservou a camada híbrida reduzindo significativamente os valores de resistência de união em relação às amostras sem aplicação da Doxiciclina, para todas as condições testadas, rejeitando a segunda hipótese (Tabela 3). Falhas adesiva, coesiva em dentina e mista foram observadas para os dois sistemas adesivos nas amostras submetidas à Doxiciclina. Soluções desinfetantes são utilizadas para descontaminação do preparo dentinário, mesmo com a possível alteração no processo de adesão (Bocangel *et al.*, 2000). Além do efeito antimicrobiano, ela é inibidora das enzimas metaloproteinases e da degradação do colágeno da dentina, aumentando a

durabilidade da união dentinária (Zhang *et al.*, 2009); porém, isso não foi observado neste estudo. Entretanto, o uso da Doxiciclina mostrou bons resultados quando doses sistêmicas (Grevstad *et al.*, 1993) foram utilizadas para irrigação subgengival em periodontia (Andrade *et al.*, 1999 e Ciotti, 2004) e como irrigante intra-radicular em endodontia (Barkhordar, 1997).

A redução nos valores de resistência da união após o uso da Doxiciclina pode ter ocorrido pela presença de resíduos remanescentes sobre a dentina, os quais provavelmente impediram o umedecimento e a penetração dos monômeros nos túbulos dentinários para formação de camada híbrida adequada. A formação inadequada da camada híbrida pode ter ocorrido, provavelmente devido à Doxiciclina ter sido aplicada após o condicionamento ácido para os grupos do sistema adesivo Adper Scotchbond MP e antes do *primer* auto-condicionante do sistema adesivo Clearfil SE. Isto sugere que ocorreu deposição desses resíduos sobre a superfície da dentina impedindo o escoamento dos sistemas adesivos nos túbulos dentinários, além da incorporação deles dentro da camada híbrida alterando sua estrutura final. Entretanto, esta ordem de aplicação foi necessária, pois as soluções antimicrobianas tendem a agir somente na camada da *smear layer* e na dentina superficial; portanto, se fossem aplicadas antes do condicionamento ácido elas poderiam ter sido removidas (Bocangel *et al.*, 2000) ou diluídas e modificadas após aplicação do *primer* auto-condicionante (Clearfil SE).

Como o uso da Doxiciclina foi efetivo em periodontia e endodontia (Barkhordar, 1997; Andrade *et al.*, 1999 e Ciotti, 2004) optou-se neste estudo

principalmente para verificar a eficiência em substrato submetido ao procedimento de radiação. Porém, observamos que o uso da Doxíciclina com a finalidade de preservar a camada híbrida ou resistência de união (RU) precisa ser reformulado. Provavelmente, algumas alterações são necessárias no material como escoamento, tamanho dos cristais, concentração e viscosidade, juntamente com o modo de aplicação, para não interferir na resistência de união aceitável clinicamente.

Com relação aos dois sistemas adesivos, eles apresentaram comportamentos semelhantes sem diferença estatística, quaisquer que fossem as demais condições, aceitando deste modo à terceira hipótese. Alguns estudos mostraram resultados semelhantes entre os dois sistemas adesivos; porém, em superfícies dentinárias não irradiadas (Toledano *et al.*, 2003; Gianinni *et al.*, 2003; Almeida, *et al.*, 2005; Góes *et al.*, 2007 e Breshi *et al.*, 2008). Isso ocorreu provavelmente devido à composição semelhante dos monômeros presentes nos dois sistemas adesivos, como o BIS-GMA (Bisphenol-glycidil dimethacrylate) e o HEMA (Hydrophobic dymetacrillate). Além disso, apesar do passo do condicionamento ácido do Adper Scotchbond MP aumentar as irregularidades da superfície dentinária com a finalidade de melhorar a retenção, os resultados foram semelhantes ao Clearfil SE Bond que possui o monômero 10-MDP (10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phophate) como componente do adesivo auto-condicionante, o que lhe confere a capacidade simultânea de desmineralizar e infiltrar a dentina. Biscaro *et al.* (2009) verificaram resultados semelhantes entre o sistema adesivo Single Bond 2, o qual utiliza o condicionamento ácido similar ao

empregado neste estudo, e os sistemas adesivos Adper Scotchbond MP e Clearfil SE Bond, após aplicação de 70 Gy de radiação, corroborando com os resultados deste estudo. Assim, verifica-se que provavelmente a radiação interferiu mais na estrutura dentária e na camada híbrida que no sistema adesivo.

Diante dos resultados obtidos neste estudo, verifica-se que dúvidas ainda existem quanto à influência danosa da radiação na resistência de união à microtração da dentina. Seria pertinente realizar outros tipos de análises na camada híbrida após radiação, com a finalidade de estabelecer protocolos específicos para maior longevidade e resistência da união compósito/dentina irradiada. Além disso, alterações devem ser feitas na composição e no modo de aplicação da Doxiciclina com a finalidade de melhorar a resistência de união. Porém, seria difícil prever o comportamento e a necessidade da substituição das restaurações adesivas confeccionadas com os materiais utilizados neste estudo, após serem submetidas à radioterapia. Por outro lado, os resultados obtidos deveriam ficar restritos às limitações deste estudo, considerando que não foi abordado, por exemplo, as alterações que podem ocorrer na flora oral e no fluxo salivar após os procedimentos de radioterapia. Assim, os clínicos em geral deveriam ficar atentos para possíveis alterações relacionadas à radioterapia na longevidade de restaurações, acompanhando o desempenho destas restaurações na cavidade bucal ao longo do tempo.

## 7 – CONCLUSÃO

Dentro das limitações do presente estudo, as seguintes conclusões podem ser definidas:

1 – Nenhuma diferença estatística foi observada entre os sistemas adesivos.

2 – O uso do antimicrobiano Doxiciclina reduziu significativamente a resistência de união, quaisquer que fossem as demais condições.

3 - A radiação das amostras antes da restauração em compósitos reduziu significativamente a resistência de união à microtração.

4 – Houve predomínio de falhas coesivas em dentina nas amostras irradiadas e restauradas (IrrRe), e mistas nas amostras restauradas antes da radiação (Relrr). Falhas mista e adesiva foram observadas no grupo Controle.

## 8 – REFERÊNCIAS\*

Albaladejo A., Osorio R., Toledano M., Ferrari M.; Hybrid layers of etch-and-rinse versus self-etching adhesive systems. Journal section: Biomaterials and Bioengineering in Dentistry. doi:10.4317/medoral.15.e112.

Al-Nawas B., Grötz K.A., Rose E., Duschner H., Kann P. And Wagner W.; Using ultrasound transmission velocity to analyse the mechanical properties of teeth after in vitro, in situ, and in vivo irradiation. Clin Oral Invest (2000) 4:168-172.

Al-Salehi, S. K., Burke, F. J. T. Methods used in dentin bonding tests: an analysis of 50 investigations on bond strength. Quintessence Int. V.28, p.717-723, 1997.

Al-Tikriti U, Martin Mv, Bramley A (1984). A pilot study of the clinical effects of irradiation on the oral tissues. Br J Oral Maxillofac Surg 22:77-86. In Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med 14(3): 199-212 (2003).

Alvarenga L.M., Ruiz Mt, Bertelli E.C.P., Ruback Mjc, Maniglia Jv, Bertollo EM; Epidemiologic evaluation of head and neck patients in a university hospital of northwestern São Paulo state. Rev Bras Otorrinolaringol. 2008; 74(1): 68-73.

Andrade D.P., Pallos D., Forte L.F.B.P., Ricardo L.H.; A doxiciclina como adjuvante no tratamento da periodontite. Int J Dent, Recife 8(4): 202-210, out./dez., 2009.

Aoba, T., Takahashi, J., Yagi, T., Doi, T., Okazaki, M., Moriwaki, Y. High-voltage electron microscopy of radiation damages in octacalcium phosphates. Journal of Dental Research. 60: 954-959. 1981

Asmussen, E.; Munksgaard, E.C. Bonding of restorative materials to dentine: status of dentine adhesives and impact on cavity design and filling techniques. Int Dent J. v.38, p.97-104, 1988.

Baratieri L.N., Dentística: procedimentos preventivos e restauradores. 2. Ed. Rio de Janeiro: Editora Santos; 1992.

---

\*De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Barkhordar Ra, Watanabe Lg, Marshall Gw, Hussain Mz.; Removal of intracanal smear by doxycycline in vitro; Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1997 Oct;84(4):420-3.

Beumer J, Curtis T, Harrison R (1979 part 1 e 2 ) Radiation therapy of the oral cavity: sequelae and management. Head neck Surg ; In Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med 14(3): 199-212 (2003)

Biscaro S.L., Moraes R.R., Correr A.B., Almeida S.M., Bóscolo F.N., Soares C.J., Correr Sobrinho L.; Effect of X-ray Radiation dose on the Bond Strength of Different Adhesives Systems to Dentin.; J Adhes Dent 2009; 11: 355-360.

Bocangel J.S., Kraul A.O.E, Vargas A.G., Demarco F.F., Matson E.; Influence of disinfectant solutions on the tensile bond strength of a fourth generation dentin bonding agent. Pesq Odont Bras v.14, n.2, p.107-111, abr/jun 2000.

Brackett, W.W.; Gunnin, T.D.; Johnson, W.W.; Conkin, J.E. Microleakage of light-cured glass-ionomer restorative materials. Quintessence Int.; v.26, n.8, p.583-5, Aug 1995.

Birkedal-Hansen-H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. J.Periodontal. 1993; 64:479-84.

Carrilho M.R.O., Carvalho R.M., De Goes M.F., Di Hipólito V., Geraldeli S., Tay F.R. et.al.; Chlorhexidine prevents dentin bond in vitro. JDent Res. 2007; Jan; 86(1):90-94.

Carvalho, R.M. Adesivos dentinários. Fundamentos para aplicação clínica. Rev. Dent. Rest., v.1, n.2, p.62-69, 1998.

Chen Ty, Webster JH (1974). Oral Monilia study on patients with head and neck cancer during radiotherapy. Cancer 34: 246-249. In Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med 14(3): 199-212 (2003).

Cheung D T, Perelman N, Tong D & Nimmi Me. The effect of gamma-irradiation on collagen molecules, isolated alpha-chains, and crosslinked native líbers. Journal of Biomedical Material Research., 24:581.1990.

Colombo J., Rahal P., Alterações Genéticas em Câncer de Cabeça e Pescoço., 2008. Revista Brasileira de Cancerologia 55(2): 165-174.

Conger Ad (1973). Loss and recovery of taste acuity in patients irradiated to the oral cavity. *Radiat Res* 53: 338-347. In Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; *Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med* 14(3): 199-212 (2003).

Cunha, F.M; Souza, G.C; Schlupp, W.R; Tincani, A. *Oncologia Cabeça e Pescoço*. Editora Vivali, São Paulo, SP . 2000.

DAVIS WB. Reduction in dentin wear resistance by irradiation and effects storage in aqueous media. *Journal of Dental Research*. 54:1078. 1979.

Denham Jw, Peters Lj, Johansen H, Poulsen M, Lamb Ds, Hindley A, et. al. (1999). Do acute mucosal reactions lead to consequential late reactions in patients with head and neck cancer? *Radiother Oncol* 52: 157-164. In Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; *Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med* 14(3): 199-212 (2003).

Demirel K. Topical application of doxycycline on periodontally involved root surfaces in vitro: comparative analysis of substantivity on cementum and dentin. *Journal of Periodontology* [1991, 62(5):312-6]

Dreizen Sa, Daly Te , Drane Jb, Brown Lr (1977). Oral complications of cancer radiotherapy. *Postgrad* 61: 85-92. In Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; *Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med* 14(3): 199-212 (2003).

Eckert G., Platt J.; A statistical evaluation of microtensile bond strength methodology for dental adhesives. *Dental Materials* 23(2007) 385-391.

Epstein JB (1990). Infection prevention in bone marrow transplantation and radiation patients. *NCL Monogr* 9: 73-85. In Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; *Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med* 14(3): 199-212 (2003).

Erkurt E, Erkisi M, Tunali C (2000). Supportive treatment in weight-losing cancer patients due to the additive adverse effects of radiation treatment and/or chemotherapy. *J Exp Clin Cancer Res* 19: 431-439. In Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; *Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med* 14(3): 199-212 (2003).

Franzel W, Gerlach R, Hein Hj, Schaller Hg. Effect of tumor therapeutic irradiation on the mechanical properties of teeth tissue. *Z Med Phys* 2006;16:148-154.

Friedmann M.M. The quality and quantitative bacteria content of strained dentin: an experimental study. *Gen Dent* 1979; 27(6): 38-44.

Fonseca R.B, Haiter-Neto F, Fernandes-Neto A.J, Barbosa G.A, Soares C.J. Radiodensity of enamel and dentin of human, bovine and swine teeth. *Arch Oral Biol*.Nov;49(11):919-22. 2004.

Geoffroy, M., Tochan-Danguy, H.J. long lived radicals in irradiated apatites: an e.s.r study of apatite samples treated with CO<sub>2</sub>. *Intern Journal of Rad Biol*. 4:621-633. 1985.

Gernhardt C.R., Kielbassa A.M., Hahn P., Schaller H.G. Tensile bond strengths of four different dentin adhesives on irradiated and non-irradiated human dentin *in vitro*. *J Oral Rehabil*. 2001 Sep;28(9):814-20.

Geursten, W. Ästhetische Restaurationen von anterioren Zahnhartsubstanzdefekten bei Tumorpatienten – Ein Fallbericht. I: *Jahrbuch der Psychologie und psychosomatik in der Zahnheilkunde* (eds H.G Sergl; H.Muller-fahlbusch).Quintessenz, Berlin. 207.1991

Giannini, M.; Carvalho, R.M.; Martins, L.R.; Dias, C.T.; Pashley, D.H. The influence of tubule density and area of solid dentin on bond strength of two adhesive systems to dentin. *J Adhes Dent*. Winter; v.3, n.4, p.315-24, 2001.

Grevstad H.J.; Doxycycline prevents root resorption and alveolar bone loss in rats after periodontal surgery. *Scand J Dent. Res* 1993; 101:28-91.

Hahn, P. *et al*. Effects of different luting procedures on the seating of ceramic inlays. *J. Oral Rehabil*. v.27, n.1, p.1-8, Jan 2000.

Handschel J, Prott Fj, Sunderkotter C, Metze D, Meyer D, Meyer U, Joos U (1999). Irradiation induces increase of adhesion molecules and accumulation of  $\beta$ 2-integrin-expressing cell in humans. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 45: 475-481. In Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; *Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy*; *Crit Rev Oral Med* 14(3): 199-212 (2003).

Hebling J., Pashley D.H., Tjaderhane L., Tay F.R. (2005); Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers *in vivo*. *J Dent Res*, 84(8): 741-746.

Horiot Jc, Scharaub S, Bone Mc, Bain Y, Ramadier J, Chaplain G, et.al. (1983). Dental preservation in patients irradiated for head and neck tumours: a 10-year experience with topical fluoride and randomized trial between two fluoridation

methods. *Radiother Oncol* 1:77-82. In Vissink A., Burlage F.R., Spijkervet F.K.L., Jansma J., Coppes R.P.; Prevention and Treatment of the Consequences of Head and Neck Radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med* 14(3):213-225 (2003).

Inoue S., Pereira Pnr, Kawamoto C, Nakajima M, Koshiro K, Tagami J; Effect of Depth and Tubule Direction on Ultimate Tensile Strength of Human Coronal Dentin. *Dental Materials Journal* 22(1): 39-47; 2003.

Jansma, J., Vissink, A., Gravenmade, E.J, Visch, I.L, Retief, D.H. The effect of X-ray radiation on the demineralization of bovine dental enamel: a Constant composition study. *Caries research*. 22:199-203. 1988

Jansma J, Vissink A, Gravenmade Ej, Visch LI, Fidler V, Retief DH (1989). In vivo study on the prevention of post-radiation caries. *Caries Res* 23: 172-178. In Vissink A., Burlage F.R., Spijkervet F.K.L., Jansma J., Coppes R.P.; Prevention and Treatment of the Consequences of Head and Neck Radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med* 14(3):213-225 (2003).

Jansma J, Borggreven Jm, Driessens Fc, S-Gravenmade Ej. Effect of X-ray irradiation on the permeability of bovine dental enamel. *Caries Res* 1990;24:164-168.

Jansma J., Vissink A., Jongbloed W.L., Retief D.H., Hohannes's-Gravenmade E.; Natural and induced radiation caries: A SEM study. *Am J Dent*. 1993 Jun;6(3):130-6.

Jervoe, P. X-ray diffraction investigation on the effect of experimental and in situ radiation on mature human teeth. A preliminary report. *Acta Odontol Scand*. Nov;28(5):623-31. 1970.

Jham B.C., Freire A.R.S.; Complicações da radioterapia em cabeça e pescoço; *Rev Bras. Otorrinolaringol* 2006; 72(5);704-8.

Joyston-Bechal, J.. The effect of X-radiation on the susceptibility of enamel to an artificial caries-like attack in vitro. *Journal of dentistry*. 13:41-44. 1985.

Kielbassa A.M, Attin T, Wrbas K.T, Stosseck M; Hellwig E. The effect of different dentin bonding agent processing methods on the tensile bond strength between glass ceramic and dentin. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift*. 52:252. 1997

Kielbassa AM, Beetz I, Schendera A, Hellwig E. Irradiation effects on microhardness of fluoridated and non-fluoridated bovine dentin. *Eur J Oral Sci* 1997;105:444-447.

Kielbassa A.M, Wrbas K.T.H, Schulte-Monting J, Hellwig E. Correlation of transversal microradiography and microhardness on situ-induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. Archives of Oral biology; 44:243-251. 1999.

Kielbassa A.M., *In situ* induced desmineralization in irradiated and non irradiated human dentin. Eur J Oral Sci 2000; 108:214-221.

Labbate R., Lehn C.N., Denardin O.V.P.; Efeitos da clorexidina na mucosite induzida por radioterapia em câncer de cabeça e pescoço. Ver Bras Otorrinolaringol. C.69, n.3, 349-54, mai/jul.2003.

Lopes M.C.; Um século de terapia com radiação. Gazeta de Física; Instituto Português de Oncologia de Coimbra. Texto disponível em: [http://nautilus.fis.uc.pt/gazeta/revistas/30\\_1/vol30\\_fasc1\\_Art03.pdf](http://nautilus.fis.uc.pt/gazeta/revistas/30_1/vol30_fasc1_Art03.pdf); Apud Grune&Stratton; Introdução a Radioterapia, 1958.

Maciejewski B, Zajusz A, Pilecki B, Swiatnicka J, Skaldowski K, Dorr W, et.al. (1991) Acute mucositis in the stimulated oral mucosa of patients during radiotherapy for head and neck cancer. Radiother Oncol 22:7-11. In Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med 14(3): 199-212 (2003).

Madison Jg 3rd, Hokett Sd. The effects of different tetracyclines on the dentin root surface of instrumented, periodontally involved human teeth: a comparative scanning electron microscope study. J Periodontol. 1997 Aug;68(8):739-45

Marshall G.W Jr, Marshall S.J, Kinney J.H. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. Journal of Dentistry. 25:441. 1997

Mcnally L.R., Rosenthal E.L., Zhang W., Buchsbaum D.J., Therapy of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma with Replicative Adenovirus Expressing Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2 and Chemoradiation Cancer Gene Ther. 2009 March; 16(3): 246–255.

Miaskowski C (1990) Management of mucositis during therapy. NCL Monogr 9: 95-98. In Vissink A., Burlage F.R., Spijkervet F.K.L., Jansma J., Coppes R.P.; Prevention and Treatment of the Consequences of Head and Neck Radiotherapy. Crit Rev Oral Biol Med 14(3):213-225 (2003).

Miyazaki, M., *et al.* Adhesion of single application bonding systems to bovine enamel and dentin. Oper Dent. V.27, p.88-94, 2002.

Mossman K., Shatzman A., Chencharick J.; Long-term effects of radiotherapy on taste and salivary function in man. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1982 Jun;8(6):991-7.

Mossman KL (1986). Gustatory tissue injury in man: radiation dose response relationship and mechanism of taste loss. *Br J Cancer* 53: 9-11. In Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; *Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy*; *Crit Rev Oral Med* 14(3): 199-212 (2003)

Nagase H., Woessner J.F.Jr.; Jr; Matrix Metalloproteinases. *J. Biol Chem*, 1999; 279:21491-4.

Nakabayashi, N.; Saimi, Y. Bonding to intact dentin. *J Dent Res.*; v.75, n.9, p.1706-15, Sep 1996.

Nakamichi, I.; Iwaku, M.; Fusayama, T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. *J Dent Res*, v.62, n.10, p.1076-81, 1983.

Naves L.Z., Novais V.R., Armstrong S.R., Correr Sobrinho L., Soares C.J.; Effect of gamma radiation on bonding to human enamel and dentin. *Support Care Cancer* (2012) 20; 2873-2878.

Ngoh, E.C.; Pashley, D.H.; Loushine, R.J.; Weller, R.N.; Kimbrough, W.F. Effects of eugenol on resin bond strengths to root canal dentin. *J Endod.*; v.27, n.6, p.411-4, Jun 2001.

Odlum O. Preventive resins in the management of radiation-induced xerostomia complications. *Journal of Esthetic dentistry.* 3:227. 1991.

Osborne, J.W.; Summit, J.B. Mechanical properties and clinical performance of a gallium restorative material. *Oper Dent* 20: 241-245, 1995.

Pashley, D.H.; Carvalho, R.M. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent*; v.25, n.5, p.335-72, 1997.

Pashley, D.H.; Smear layer: physiological considerations. *Oper Dent* 1984; 3:13-29.

Pashley, D.H.; Ciucchi, B.; Sano, H.; Horner, J.A. Permeability of dentin to adhesive agents. *Quintessence Int.*; v.24, n.9, p.618-31 Sep 1993

Paul, S.J.; Welter, D.A.; Ghazi, M.; Pashley, D. Nanoleakage at the dentin adhesive interface vs microtensile bond strength. *Oper Dent.*; v.24, n.3, p.181-8, May-Jun 1999.

Perdigão, J.; Lopes, L.; Lambrechts, P.; Leitão, J.; Vam Meerbeek, B.; Vanherle, G. Effects of a self-etching primer on enamel shear bond strengths and SEM morphology. *Am J Dent.*; v.10, n.3, p.141-6 Jun 1997. Erratum in: *Am J Dent.*; v.10, n.4, p.183, Aug 1997.

Pioch, T., Moller. D., Staehle, H.J, Hoppe, W. Solubility of enamel and synthetic hydroxylapatite on irradiation. *Deutsch Zahnarztl Z.* Jun;46(6):413-5. German. 1991.

Pioch T, Golfels D, Staehle H.J. An experimental study of the stability of irradiated teeth in the region of the dentinoenamel junction. *Endo Dent Traumatol.* 8:241. 1992.

Pioch, T. (1998). Studies on radiation-induced changes in dental hard-tissues. Postdoctoral Thesis. Ruprecht-Karls-University, Heidelberg. 1998.

Rahmat A. Barkhordar Dmd, A, Larry G. Watanabe Bsb, Grayson W. Marshall DDS, PhDc and M. Zamirul Hussain PhDd; Removal of intracanal smear by doxycycline in vitro Received 31 May 1996

Ramirez-Amador V, Silverman S, Mayer P, Tyler M, Quivey J (1987). Candidal colonization and oral candidiasis in patients undergoing oral and pharyngeal radiation therapy. *Oral surg oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 84: 149-153. In VISSINK A., JANSMA J., SPIJKERVET F.K.L., BURLAGE F.R., COPPES R.P.; *Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy*; *Crit Rev Oral Med* 14(3): 199-212 (2003).

Raposo L.H.A., Armstrong S.R., Maia R.R., Qian F., Geraldeli S., Soares C.J., Effect of specimen gripping device, geometry and fixation method on microtensile bond strength failure mode and stress distribution: laboratory and finite element analyses. *Dental Materials* 28(2012) 50-62.

Reis F, Oliveira M.T, Giannini M, De Goes M.F, Rueggeberg F.A. The effect of organic solvents on one-bottle adhesives' bond strength to enamel and dentin. *Oper Dent.* Nov-Dec;28(6):700-6. 2003.

Reis A.F, Giannini M, Kavaguchi A, Soares C.J, Line SR. Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine, and porcine teeth. *J Adhes Dent.* Summer;6(2):117-21. 2004.

Richardson M., Wong D., Lacroix S., Stanisiz J., Singh G.; Inhibition by doxycycline of angiogenesis in chicken chorioallantoic membrane (CAM). *Cancer Chemotherapy and Pharmacology.* July 2005, Volume 56, Issue 1, pp 1-9.

Rode S.N., Ferreira Santos J.F. Limpeza cavitária: remoção da camada de "smear". Ver Bras Odontológica 1990; 47(5): 46-51.

Rosales A.C.M.N., Esteves S.C.B., Jorge J., Almeida O.P., Lopes M.A.; Dental Needs in Brazilian Patients Subjected to Head and Neck Radiotherapy. Braz Dent J (2009); 20(1): 74-77.

Rossler, R., Mitropoulos, S., Klimek, J. Quantification of mineral loss after in vitro demineralization of irradiated enamel by longitudinal microradiography. Caries Research. 29:307. 1995.

Ryou H., Amin N. Ron A., Eidelman N., Wang D.H., Romberg E., et.al.; J Mater Sci Mater Med. 2011 May; 22(5): 1127-1135.

Salazar M., Victorino F.R., Paranhos L.R., Ricci I.D., Gaeti Wp., Caçador N.P.; Efeitos do tratamento de radioterapia de cabeça e pescoço de interesse do cirurgião-dentista. Revisão de Literatura. Revista Odonto, Ano 16, n.13, jan.jul 2008.

Salvajoli J.V, Maia M.A.C, Novaes P.E.R.S. Cavidade Oral. In: Salvajoli J.V, Souhami L, Faria S.L Radioterapia em Oncologia. Rio de Janeiro: MEDSI Editora Médica e Científica Ltda. 335-368. 1999.

Sano, H. *et al.* Microspore's dentin zone beneath resin-impregnated layer. Oper. Dent., v. 19, p. 59-64, 1994.

Sano, H.; Takatsu, T.; Ciucchi, B., *et al.* Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. Operative Dentistry; v.20, p.18-25, 1994.

Schilke, R.; Bauss, O.; Lisson, J.A.; Schuckar, M. & Geurtsen, W. Bovine dentin as a substitute for human dentin in shear bond strength measurements. Am J Dent. V.12, n.2, p.92-96, 1999.

Schilke, R.; Lisson, J.A.; Baub, O.; Geurtsen, W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. Arch Oral Biol.; v.45, n.5, p.355-61, May 2000.

Schmalz, G.; Hiller, K.A.; Nunez, L.J.; Stoll, J.; Weis, K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. J Endod.; v.27, n.1, p.23-30, Jan 2001.

Schreiner, R.F.; Chappell, R.P.; Glaros, A.G.; Eick, J.D. Microtensile testing of dentin adhesives. Dent Mater.; v.14, n.3, p.194-201, Jun 1998.

Scully C, Epstein JB (1996). Oral health care for the cancer patient. Oral Oncol Eur J Cancer 32 (B): 281-292. In VISSINK A., JANSMA J., SPIJKERVET F.K.L.,

BURLAGE F.R., COPPES R.P.; Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med 14(3): 199-212 (2003).

Shannon I L, W B Wescott, E N Starcke , J Mira. Laboratory study of cobalt –60-irradiated human dental enamel. Journal of Oral Medicine.1978, 33:23-27

Shannon I.L., Trodahl J.N. & Starcke E.N.; Remineralization of enamel by saliva substitute designed for use by irradiated patients. Cancer 1978. 41(5), 1746-50.

Silva, G. R., Guardieiro, B., Soares,C.J, Fonseca,R.B, Gomide, H. A., Oliveira, L. C. A.; Influência do período entre a aplicação e ativação do adesivo na resistência de união de cimento resinoso à dentina. Pesquisa Odontológica Brasileira. Águas de Lindóia-SP: , v.17, n.2, p.95 - 95, 2003

Silva AR, Alves FA, Berger SB, Giannini M, Goes MF, Lopes MA. Radiation-related caries and early restoration failure in head and neck cancer patients. A polarized light microscopy and scanning electron microscopy study. Support Care Cancer. 2009 Apr 17.

Soares, C.J, Giannini, M, Oliveira, M.T, *et al.*; Effect of surface treatments of laboratory-fabricated composites on the microtensile bond strength to a luting resin cement. J. Appl. Oral Sci., vol.12, no.1, p.45-50. 2004.

Soares C.J., Neiva N.A., Soares P.B.F., Dechichi P., Novais V.R., Naves L.Z. *et.al.*; Effects of Chlorhexidine and Fluoride on Irradiated Enamel and Dentin. J Dent Res 90(5): 659-664, 2011.

Springer In, Niehoff P, Warnke Ph, Böcek G, Kovács G, Suhr M, Wiltfang J, Açil Y Radiation caries--radiogenic destruction of dental collagen. Oral Oncol. 2005 Aug;41(7):723-8.

Tay, F.R & Pashley, D.H. Resin bonding to cervical sclerotic dentin: a review. J Dent.. 32(3):173-96. 2004.

Tezvergil-Mutluaya A, Ageeb Ka, Hoshikac T, Carrilho M, Breschie L, Tjäderhanef L, *et.al.*; The requirement of zinc and calcium ions for functional MMP activity in demineralized dentin matrices *Dent Mater.* 2010 November ; 26(11): 1059–1067. doi:10.1016/j.dental.2010.07.006.

Tjan, A.H & Greive, J.H. Effects of various cementation methods on the retention of prefabricated posts. J Prosthet Dent.; v.58, n.3, p.309-13, Sep 1987.

Tomita Y, Osaki T (1990). Gustatory impairment and salivary gland pathophysiology in relation to oral cancer treatment . Int J Oral Maxillofac Surg 19: 299-304. In VISSINK A., JANSMA J., SPIJKERVET F.K.L., BURLAGE F.R., COPPES R.P.; Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med 14(3): 199-212 (2003).

Tupchong I, Scott C.B, Blitzer P.H *et al.*, . Randomize study of preoperative versus postoperative radiation therapy in advanced head and neck carcinoma: Long term follow-up of RTOG study 73-03. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 20:21-28. 1991.

Van Meerbeek B., Dentin/enamel bonding. J Esthet Restor Dent. 2010 Jun;22(3):157

Vichi, A.; Grandini, S.; Davidson, C.L.; Ferrari, M. An SEM evaluation of several adhesive systems used for bonding fiber posts under clinical conditions. Dent Mater.; v.18, n.7, p.495-502, Nov 2002.

Vissink A., Jansma J., Spijkervet F.K.L., Burlage F.R., Coppes R.P.; Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy; Crit Rev Oral Med 14(3): 199-212 (2003).

Vissink A., Burlage F.R., Spijkervet F.K.L., Jansma J., Coppes R.P.; Prevention and Treatment of the Consequences of Head and Neck Radiotherapy. Crit Rev Oral Biol Med 14(3):213-225 (2003).

Von Franhofer J.A., Curtis Jr.P., Sharma S., Farman A.G. . The effects of fama radiation on the properties of composite restorative resins. J.Dent. 1989; 17:177-83.

Walker, R. Direct effect of radiation on the solubility of human teeth in vitro. J Dent Res. Jul-Aug;54(4):901.1975.

Walker MP, Williams KB, Wichman B. Post-radiation dental index: development and reliability. Support Care Cancer (2008) 16:525-530.

Walker M.P., Wichman B., Cheng A., Coster J., Williams K.; Impact of Radiotherapy Dose on Dentition Breakdown in Head and Neck Cancer Patients. Pract Radiat Oncol. 2011; 1 (3): 142-148.

Weisenfeld D, Stewart AM, Mason DK (1983). A critical assessment of oral lubricants in patients with xerostomia. Br Dent J 155: 155-157. In VISSINK A., BURLAGE F.R., SPIJKERVET F.K.L., JANSMA J., COPPES R.P.; Prevention and Treatment of the Consequences of Head and Neck Radiotherapy. Crit Rev Oral Biol Med 14(3):213-225 (2003).

Wei X., Ben-Xiang H., Ya-Lin L.; Bond Strength of different adhesives to normal and caries affected dentins. Chin Med J 2010; 123(3): 332-336.

Wostmann B, Rasche K.R. The influence of radiotherapy on survival time of teeth and restorations. A study on patients with maxillofacial defects. Zahnärztliche Welt. 104:627 . 1995.

Yoshiyama M, Carvalho R, Sano H, Horner J, Brewer Pd, Pashley DH. Interfacial morphology and strength of bonds made to superficial versus deep dentin. Am J Dent. 8(6):297-302.1995.

Yoshiyama M, Sano H, Ebisu S, Tagami J, Ciucchi B, Carvalho Rmjohnson M.H, Pashley D.H. Regional strengths of bonding agents to cervical sclerotic root dentin. J Dent Res..75(6):1404-13.1996.

Zhang S., Kern M., Review: The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. Doi: 10.4248/IJOS.09044.

# ANEXO

09/11/12

Comitê de Ética em Pesquisa - Certificado



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



## CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "**Influência da radiação na adesão de restaurações diretas à dentina antes e após a radioterapia**", protocolo nº 146/2011, dos pesquisadores Eveline Freitas Soares, Lourenço Correr-sobrinho e Lucas Zago Naves, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 15/02/2012.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "**Influence of radiation on direct restorations bonding on dentin before and after radiotherapy**", register number 146/2011, of Eveline Freitas Soares, Lourenço Correr-sobrinho and Lucas Zago Naves, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 02/15/2012.

  
**Profa. Dra. Lívia Maria Andakó Tenuta**  
Secretária  
CEP/FOP/UNICAMP

  
**Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior**  
Coordenador  
CEP/FOP/UNICAMP

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