**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO**

FABIANE CARNEIRO LOPES

**Efeito da carbodiimida e da clorexidina na longevidade da
resistência de união de cimento resinoso à dentina radicular e na
composição química e estrutura do colágeno dentinário após
radioterapia**

**Ribeirão Preto
2018**

FABIANE CARNEIRO LOPES

**Efeito da carbodiimida e da clorexidina na longevidade da
resistência de união de cimento resinoso à dentina radicular e na
composição química e estrutura do colágeno dentinário após
radioterapia**

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do grau de Doutor em Ciências – Programa: Odontologia Restauradora - Área de concentração: Odontologia Restauradora (Opção: Endodontia) realizada em conjunto com a Universidade Case Western Reserve, Cleveland, Ohio, EUA, com bolsa de doutorado sanduíche no exterior.

Versão corrigida

Orientador: Prof. Dr. Manoel D. Sousa Neto

Supervisor: Prof. Dr. Renato Roperto

Ribeirão Preto

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Assinatura do autor: _____

Data: ____/____/2018

Ficha Catalográfica

Lopes, Fabiane Carneiro

Efeito da carbodiimida e da clorexidina na longevidade da resistência de união de cimento resinoso à dentina radicular e na composição química e estrutura do colágeno dentinário após radioterapia, 2018.

146p.: il.; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP-USP), área de concentração: Odontologia Restauradora- área Endodontia. "Versão corrigida da Tese. A versão original se encontra disponível na Unidade que aloja o Programa."

Orientador: Prof. Dr. Manoel Damião de Sousa Neto

1. Carbodiimida. 2. Clorexidina. 3. Colágeno.

LOPES, F. C. Efeito da carbodiimida e da clorexidina na longevidade da resistência de união de cimento resinoso à dentina radicular e na composição química e estrutura do colágeno dentinário após radioterapia. 2018. 146p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Este trabalho de pesquisa foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Endodontia do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, no Laboratório do Departamento de Atendimento Integrado da Faculdade de Odontologia da Universidade Case Western Reserve e no Laboratório do Departamento de Ciência Macromolecular e Engenharia da Faculdade de Engenharia da Universidade Case Western Reserve, com bolsa do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior da CAPES (Processo nº 88881.135778/2016-01).

This research was conducted at the Endodontic Research Laboratory of the Department of Restorative Dentistry of the School of Dentistry of Ribeirão Preto at University of São Paulo; in the Laboratory of the Comprehensive Care Department at Case Western Reserve School of Dental Medicine, and at the Department of Macromolecular Science and Engineering Laboratory at Case Western Reserve School of Engineering, with a abroad scholarship from the Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Higher Education (CAPES) (#88881.135778 / 2016-01).

*A*presentação

Em 2013 iniciei meu Mestrado em Endodontia junto ao Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP) sob orientação do Prof. Dr. Manoel D. Sousa Neto. No decorrer do curso e das disciplinas pude conhecer e utilizar diferentes equipamentos de laser para aplicação em Endodontia, como o Biolase – Er,Cr:YSGG, Sirona – Laser de Diodo, e o Smartfile – Deka – Nd:YAG no Laboratório de Pesquisa em Laser do Departamento de Odontologia Restauradora da FORP/USP. O contato com esses equipamentos despertou meu interesse pelo tema e resultou no meu projeto de Mestrado intitulado *“Alteração química e morfológica da dentina radicular tratada com diferentes lasers de alta potência”*.

Na ocasião, tive a oportunidade de desenvolver parte do meu projeto de pesquisa na Universidade Case Western Reserve na cidade de Cleveland, Ohio, nos Estados Unidos, sob supervisão do Prof. Dr. Renato Roperto. Durante este período, além dos estágios docentes e clínicos, tive a chance de fazer treinamentos para manuseio do equipamento de espectroscopia Raman com o professor coordenador do Laboratório de Bioengenharia Ortopédica do Departamento de Engenharia Mecânica e Aeroespacial da Universidade Case Western Reserve, Prof. Dr. Ozan Akkus, e com a Prof. Dr^a. Anna Akkus, do Departamento de Atendimento Integrado da Faculdade de Odontologia da Universidade Case Western Reserve. Desde então, me envolvi ativamente na concepção e no desenvolvimento de projetos de pesquisa empregando não apenas a espectroscopia Raman como também outras ferramentas para análise da composição química dos tecidos dentais mineralizados, sob a orientação do Prof. Dr. Manoel D. Sousa-Neto. Como fruto dessa parceria entre o Laboratório de Pesquisa em Endodontia do Departamento de Odontologia Restauradora da FORP-USP e a Universidade Case Western Reserve foram publicados três artigos: o primeiro, intitulado *“Effects of different lasers on organic/inorganic ratio of radicular dentin”*, resultante da minha dissertação de Mestrado citada previamente que foi publicado no *Lasers in Medical Science* (2016; v. 31: 415-20); o segundo, intitulado *“Effect of laser activated bleaching on the chemical stability and morphology of intracoronaral dentin”* e publicado no *Archives of Oral Biology* (2017; v. 86: 40-45); e o terceiro, também fruto da dissertação de Mestrado, intitulado *“Evaluation of Chemical and Morphological Changes in Radicular Dentin after Different Final Surface Treatments”* e publicado na *Microscopy Research and Technique* (2018; Epub ahead of print).

Durante o Doutorado, iniciado em 2015 no Departamento de Odontologia Restauradora da FORP/USP, sob orientação do Prof. Dr. Manoel D. Sousa Neto, aproveitamos os conhecimentos adquiridos sobre análise da composição química de tecidos mineralizados e iniciamos estudos avaliando o efeito da radioterapia na composição química e estrutura do colágeno, e seu impacto na longevidade da resistência de união de material resinoso, uma vez que a radioterapia da região de cabeça e pescoço leva a uma série de complicações bucais que resultam na ocorrência da cárie de radiação. Esta se difere das lesões de cárie convencionais por apresentar rápida progressão e atingir superfícies normalmente livres de cárie, ocasionando severa destruição dos tecidos dentais mineralizados. Somado a isso, os procedimentos restauradores em dentes irradiados encontram como obstáculo menor resistência de união, o que dificulta a reabilitação oral desses pacientes, fazendo com que seja fundamental a realização de estudos que busquem entender mais profundamente como a radioterapia altera as propriedades da dentina.

Em 2017 fui contemplada com uma bolsa (processo nº 88881.135778/2016-01) pelo Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior – PDSE, Edital nº 19/2016, da Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), possibilitando meu retorno para a Universidade Case Western Reserve e a continuidade da parceria estabelecida durante o meu Mestrado. Tive a oportunidade de fazer treinamentos para manuseio do equipamento de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) com a engenheira responsável pelo Laboratório do Departamento de Ciência Macromolecular e Engenharia da Universidade Case Western Reserve, Prof. Dr^a. Anna Akkus, além de conhecer diferentes métodos muito utilizados na Engenharia para análise de polímeros como o Analisador Termogravimétrico (TGA).

Em colaboração, venho também participando de forma intensa de projetos de pesquisa, teses e dissertações envolvendo outras metodologias na área de Endodontia, entre elas análises morfológicas em microscópio confocal a laser e microscópio eletrônica de varredura, testes de propriedades físico-químicas de cimentos endodônticos, microbiologia, além de testes mecânicos em Máquina Universal de Ensaio, o que me possibilitou uma vivência mais ampla de diferentes métodos e linhas de pesquisa na Odontologia Restauradora. Esses projetos de pesquisa têm sido publicados com o grupo de pesquisa da FORP/USP na forma de artigos em periódicos de circulação internacional (*International Endodontic Journal*,

The Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, Brazilian Oral Research, e Lasers in Surgery and Medicine) e na forma de resumos.

Paralelamente, tenho buscado o estudo, a troca de experiências e o aprimoramento constante por meio da participação como ouvinte e apresentadora em conferências no Brasil e no exterior. Tive a oportunidade de participar em 2015 do International Association for Dental Research IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition em Boston nos Estados Unidos e em 2017 do Academy of Dental Materials (ADM) Annual Meeting em Nuremberg, na Alemanha, importantes congressos da odontologia de forma geral e de materiais dentários, respectivamente, além das participações nas reuniões anuais da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica (SBPqO), o que possibilitou aperfeiçoar meus conhecimentos.

A minha trajetória na pós-graduação aqui brevemente descrita resultou, além da tese apresentada, na publicação de 8 artigos científicos em revistas indexadas no *pubmed*, com *Journal Citation Reports* (JCR), e 9 resumos.

ARTIGOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS

1. CAMPI, LB; **LOPES, FC**; SOARES, LES; QUEIROZ, AM; OLIVEIRA, HF; SAQUY, PC; SOUSA-NETO, MD. Effect of radiotherapy on the chemical composition of root dentin. *Head & Neck*, 2018. [Epub ahead of print].
2. **LOPES, FC**; ROPERTO, R; AKKUS, A; SILVA-SOUSA, YTC; SOUSA-NETO, MD. Effect of different lasers on radicular dentin as a final surface treatment for endodontic therapy. *Microscopy Research and Technique*, 2018. [Epub ahead of print].
3. YAMIN, PA; PEREIRA, RD; **LOPES, FC**; QUEIROZ, AM; OLIVEIRA, HF; SAQUY, PC; SOUSA-NETO, MD. Longevity of bond strength of resin cements to root dentine after radiation therapy. *International Endodontic Journal*, 2018. [Epub ahead of print]. doi: 10.1111/iej.12945.
4. CAMARGO, RV; SILVA-SOUSA, YTC; ROSA, RPF; MAZZI-CHAVES, JF; **LOPES, FC**; STEIER, L; SOUSA-NETO, MD. Evaluation of the physicochemical properties of silicone- and epoxy resin-based root canal sealers. *Brazilian Oral Research*, v. 21, n. 31, p. e72, 2017. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0072.
5. BORGES, CC; ESTRELA, C; **LOPES, FC**; PALMA-DIBB, RG; PECORA, JD; DE ARAÚJO ESTRELA, CR; SOUSA-NETO, MD. Effect of different diode laser wavelengths on root dentin decontamination infected with *Enterococcus faecalis*. *Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 176, p. 1-8, 2017. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.09.009.
6. **LOPES, FC**; ROPERTO, R; AKKUS, A; AKKUS, O; PALMA-DIBB, RG; DE SOUSA-NETO, MD. Effect of laser activated bleaching on the chemical stability and morphology of intracoronary dentin. *Archives of Oral Biology*, v. 13, n. 86, p. 40-45, 2017. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.10.023.

7. **LOPES, FC**; ROPERTO, R; AKKUS, A; AKKUS, O; SOUZA-GABRIEL, AE; SOUSA-NETO, MD. Effects of different lasers on organic/inorganic ratio of radicular dentin. *Lasers in Medical Science*, v. 31, n. 3, p. 415-20, 2016. doi: 10.1007/s10103-015-1862-y.
8. FRANCESCHINI, KA; SILVA-SOUSA, YT; **LOPES, FC**; PEREIRA, RD; PALMA-DIBB, RG; DE SOUSA-NETO, MD. Bond strength of epoxy resin-based root canal sealer to human root dentin irradiated with Er,Cr:YSGG laser. *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 48, n. 10, p. 985-994, 2016. doi: 10.1002/lsm.22496.

RESUMOS PUBLICADOS

1. **LOPES, FC**; ROPERTO, R; AKKUS, A; AKKUS, O; PALMA-DIBB, RG, SOUSA-NETO, MD. Laser-activated bleaching effect on intracoronar dentin chemical stability and morphology. *Dental Materials*, v. 33, s. 1, p. e1-e2, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.08.002>.
2. SOUSA-NETO, MD; ZANGIROLAMI, C; **LOPES, FC**; MAZZI-CHAVES, JF; SILVA-SOUSA, AC; CROZETA, BM; SILVA-SOUSA, YTC. Ultrasonic activation effect on physicochemical properties of root canal sealers. *Dental Materials*, v. 33, s. 1, p. e75-e76, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.08.152>.
3. BORGES, CC; SILVA-SOUSA, YTC; **LOPES, FC**; SILVA-SOUSA, AC; SILVA, RG; SOARES, IMV; SOUSA-NETO, M. D. Physicochemical properties of methacrylate resin-based root canal sealers. *Dental Materials*, v. 33, s. 1, p. e14, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.08.024>.
4. PAIOLA, FG; **LOPES, FC**; MAZZI-CHAVES, JF; PEREIRA, RD; OLIVEIRA, HF; QUEIROZ, AM, SOUSA-NETO, MD. Chelating solutions effect on bond strength in irradiated teeth. *Dental Materials*, v. 33, s. 1, p. e24, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.08.047>.
5. CAMPI, LB; **LOPES, FC**; SOARES, LES; QUEIROZ, AM; DE OLIVEIRA, HF; SOUSA-NETO, MD; SAQUY, PC. Efeito da radioterapia na composição química da dentina radicular. *Brazilian Oral Research*, v. 31, s. 2, 2017.
6. CAMARGO, RV; SILVA-SOUSA, YTC; FERREIRA-DA-ROSA, RP; MAZZI CHAVES, JF; **LOPES, FC**; SOUSA-NETO, MD. Avaliação das propriedades físico-químicas de cimentos obturadores dos canais radiculares à base de resina epóxica e silicone. *Brazilian Oral Research*, v. 31, s. 2, 2017.
7. CAMPI, LB; **LOPES, FC**; ROSELINO, RF; SOUZA-GABRIEL, AE; PALMA-DIBB, RG; SOUSA-NETO, MD. Efeito de diferentes tratamentos, antes e após sinterização, na resistência de união de zircônias fabricadas em CAD/CAM. *Brazilian Oral Research*, v. 30, s. 1, 2016.
8. **LOPES, FC**; SOUZA-GABRIEL, AE; ROPERTO, R; AKKUS, A; AKKUS, O; SOUSA-NETO, MD. Chemical and ultrastructural effect of laser treatment on radicular dentin. In: 2015 IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition. Boston, Massachusetts. 2015.
9. **LOPES, FC**; ROPERTO, R; AKKUS, A; AKKUS, O; PALMA-DIBB, RG; SOUSA-NETO, MD. Estabilidade química da dentina coronária submetida ao clareamento com peróxido de hidrogênio ativado com laser diodo 970 nm. *Brazilian Oral Research*, v. 29, s. 1, 2015.

Dedicatória

Ao meu pai, **Marcelo Araújo Silva Lopes**, meu maior exemplo, pela paciência, pelos ensinamentos, pela compreensão durante minhas ausências, e por sempre apoiar e incentivar meus estudos, se orgulhando das minhas conquistas.

À minha mãe **Myrian Aparecida Carneiro Steinbaugh** e meu padrasto **Eric Nelson Steinbaugh** que, apesar da distância, sempre se fizeram presentes com palavras de carinho, apoio e incentivo constante às minhas escolhas. Obrigada por acreditarem na minha capacidade e por se orgulharem de mim.

Ao meu querido irmão e amigo, **Henrique Carneiro Lopes**, pelo incentivo e confiança sempre depositados em mim, e por sempre me fazer lembrar que apesar da distância nunca se está só, sempre tendo um ao outro.

À minha avó, **Maria Ignêz Mattos de Freitas Carneiro**, por estar presente em todos os momentos importantes da minha vida, acompanhando todas as etapas da minha caminhada até aqui, sempre me incentivando, orando, e oferecendo suporte emocional nos momentos difíceis.

Ao meu namorado, **Enrico Arnaldo Olhê**, pela compreensão, incentivo e apoio em todos os momentos. Obrigada por sempre encontrar em você amor e amizade. Seu exemplo de ser humano e profissional me orientam na busca de ser cada vez melhor.

Gratidão!

Agradecimentos

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Manoel Damião de Sousa Neto**, pelos ensinamentos, elogios e críticas que me fazem crescer constantemente. Meu reconhecimento e eterna gratidão pelo importante apoio desde os meus primeiros passos na Endodontia durante a graduação, pela orientação na pós-graduação e pelas oportunidades concedidas que foram fatores determinantes para a minha formação intelectual, científica e profissional. Obrigada pela confiança.

Ao **Prof. Dr. Renato Roperto**, por ter me acolhido novamente na Universidade Case Western Reserve, dessa vez para a realização do doutorado sanduíche. Agradeço a importante contribuição não apenas para a realização deste estudo mas também para o meu crescimento profissional e pessoal.

À **Profª. Drª. Anna Akkus**, exemplo de profissional e pesquisadora, pelo conhecimento transmitido, pela colaboração neste trabalho e pela gentileza com que me recebeu em seu laboratório na Faculdade de Engenharia da Universidade Case Western Reserve.

À **Profª. Drª. Yara Terezinha Côrrea Silva Sousa**, coordenadora do programa de pós-graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, pelos conhecimentos compartilhados, pela disponibilidade e por sempre me receber com muito carinho.

Ao **Prof. Dr. Jesus Djalma Pécora**, pelo convívio e por compartilhar seu olhar sobre a pesquisa científica. Exemplo de pesquisador, visionário da ciência e da vida. Admiração por seu trabalho, sabedoria e cultura.

Ao **Prof. Dr. Antonio Miranda da Cruz Filho**, pela agradável convivência, e pelos ensinamentos transmitidos sobre a Endodontia que contribuíram para minha escolha por esta especialidade.

Aos professores do Departamento de Odontologia Restauradora, **Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva, Prof. Dr. Ricardo Novak Savioli, Prof. Dr. Luiz Pascoal Vansan, Profª. Drª. Regina Guenka Palma Dibb e Profª. Drª. Aline Evangelista de Souza Gabriel**, pelo convívio agradável e ensinamentos.

Aos funcionários, **Carlos Feitosa dos Santos, Reginaldo Santana, Débora Fernandes Costa Guedes, Luiza Godoi Pitol, Rosângela Angelini, Juliana Jendiroba Faraoni Romano, Patrícia Marchi, Frederico Augusto Farias, Maria Amália Viesti de Oliveira, Paulo Marcos Fazzio, Luciano Luiz Finco, Juliano Pratti Mercantil, Rafael Angelo Lascalea Femineli, Maria Isabel Miguel, Isabel Cristina Sola e Mary Possani Carmessano**, pelo auxílio, solicitude e carinho com que me trataram.

Aos amigos da pós-graduação **Rodrigo Dantas Pereira, Graziela Bianchi Leoni, Bruno Monguilhott Crozeta, Isadora Mello Vilarinho Soares, Luis Eduardo Souza Flamini, Caroline Cristina Borges, Livia Bueno Campi, Jacy Ribeiro de Carvalho Júnior, Rafael Verardino Camargo, Rafael Assis, Paulo André Yamin, Fabiana de Góes Paiola, Bárbara Braga Jobim, Isabela Lima de Mendonça, Alessandro Lamira, Amanda Buosi de Biagi, Fernanda Plotegher, Daniel Filizola, Fillipe Mendes Silva, Igor Petean, Kleber Carvalho, Laise Rodrigues, Larissa Ernesto, Patricia Escobar, Gabriela Gabilan Hadid, Vitor Luís Ribeiro, Thais Oliveira Alves e Vicente Reinaldo Fretes**, pela convivência agradável e pela troca de experiências.

Ao querido amigo **Jardel Francisco Mazzi Chaves**, que caminhou ao meu lado durante toda a minha trajetória na graduação e pós-graduação, por todo o apoio, parceria, e, acima de tudo, pela amizade.

As minhas queridas amigas, **Carolina Noronha Ferraz de Arruda, Marília Bianchini Lemos Reis, Juliana Arid, Camila Quaioti, Elisa Gomes, Diana Ferreira Paulo, Daniela Coletti, Fabiana Butti Abichabki, Juliana Sampaio, Lígia Mendonça Megale, Jéssica Blanco, Talita Colucio Luders, Aliny Gallico e Cristina Valente**, por compartilharem os desafios e vibrarem com as alegrias e conquistas desta etapa importante na minha vida.

À **CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior**, pelo apoio financeiro durante toda minha trajetória na pós graduação e pela bolsa do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior – PDSE outorgada.

À **Universidade Case Western Reserve**, pela oportunidade de poder usufruir da estrutura impecável de altíssimo nível que foi essencial para a realização deste trabalho e para o meu crescimento profissional.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto**, que desde a graduação me acolheu e permitiu meu crescimento pessoal e profissional.

*“O maior obstáculo para a descoberta
não é a ignorância - é a ilusão do
conhecimento”*

Stephen William Hawking

Resumo

LOPES, F.C. **Efeito da carbodiimida e da clorexidina na longevidade da resistência de união de cimento resinoso à dentina radicular e na composição química e estrutura do colágeno dentinário após radioterapia.** 2018, 146p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Este estudo avaliou o efeito da carbodiimida (EDC) e da clorexidina (CLX) na longevidade da resistência de união (RU) de cimento resino à dentina radicular e na composição química e estrutura do colágeno de dentes submetidos à radioterapia. 120 caninos superiores foram selecionados e distribuídos em 2 grupos: não irradiados (n=60) e irradiados (30 ciclos de 2Gy, totalizando 60Gy) (n=60). Os dentes foram seccionados, sendo as raízes destinadas à análise da RU e os remanescentes coronários à análise química. 40 fragmentos coronários remanescentes, 20 irradiados e 20 não irradiados, foram seccionados, lixados e polidos para obtenção de blocos de dentina intraradicular (3x3x2mm), distribuídos de acordo com o tratamento da dentina (n=10): CLX 2% e EDC 0,5M. A análise foi realizada em espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) no tempo zero (T0) e após 1(T1), 3(T3) e 5(T5) min de imersão nas soluções para análise das bandas de carbonato (C), amida I (AI) e razão entre as bandas amida III e prolina e hidroxiprolina (AIII/PH). As raízes (16mm) foram instrumentadas com Reciproc (R50) e obturadas com AH Plus. Em seguida, as raízes foram preparadas para pino e redistribuídas de acordo com o tratamento da dentina (n=20): soro fisiológico (SF); CLX 2%; e EDC 0,5M. Após secagem do canal, pinos de fibra de vidro foram cimentados com RelyX U200. Em seguida, obteve-se os *slices* e, em metade dos espécimes de cada subgrupo (n=10), as análises foram realizadas imediatamente; as demais (n=10) foram armazenadas por 10 meses, para análise da longevidade. O *slice* mais cervical de cada terço foi submetido ao *push-out* e padrão de falha (n=10), e o *slice* mais apical submetido à análise da interface adesiva em microscopia eletrônica de varredura (MEV) (n=5). Os dados de área das bandas e de RU foram submetidos à análise estatística pelos testes de ANOVA e Tukey, já a adaptação da interface adesiva foi submetida aos testes de Kruskal-Wallis e Duns, e o teste qui-quadrado foi utilizado para avaliar o tipo de falha. Não houve diferença estatística para as áreas das bandas de C; para AI houve diferenças entre os tempos experimentais ($P<0,0001$) independentemente dos fatores radioterapia e tratamento, em que T3 e T5 apresentaram valores maiores que T0 e T1 ($P<0,05$); já a razão AIII/PH foi reduzida pela radioterapia ($P<0,05$), sendo que o EDC aumentou os valores de AIII/PH em T1, T3 e T5 em dentes irradiados ($P<0,05$), sendo esses valores semelhantes aos dentes não irradiados ($P>0,05$); já para a CLX os valores de AIII/PH foram menores para todos os tempos experimentais tanto em dentes irradiados como não irradiados ($P<0,05$). Os dentes irradiados apresentaram menores valores de RU ($13,8\pm4,3$) comparados aos não irradiados ($18,1\pm3,1$) ($P<0,001$). Para os dentes irradiados, os valores de RU foram menores para o SF e CLX ($P<0,001$), sendo que o EDC mostrou valores de RU similares aos dentes não irradiados ($P=0,215$). Para os dentes não irradiados, os valores de RU foram similares para os dentes tratados com SF, CLX e EDC ($P>0,05$). Ainda, a RU reduziu após 10 meses para o grupo tratado com SF e CLX ($P<0,001$), sendo que o EDC manteve os valores ($P=0,236$), de forma que após 10 meses, o EDC apresentou maior RU que a CLX ($P<0,001$), sendo a CLX superior ao SF ($P<0,001$). O terço cervical apresentou maior RU quando comparado ao terço médio ($P<0,001$), que por sua vez foi maior que no terço apical ($P<0,001$). O padrão de falhas mostrou ocorrência de falhas coesivas na dentina para os espécimes irradiados, e a análise da interface adesiva em MEV mostrou maior desadaptação nos dentes submetidos à radioterapia, além de fraturas e microfraturas na dentina. Em relação aos tratamentos da dentina, observou-se maior adaptação para o EDC. A radioterapia altera a estrutura secundária do colágeno, resultando na redução da RU e maior desadaptação da interface, sendo que o tratamento da dentina com EDC devolveu a integridade do colágeno, se apresentando como melhor alternativa para tratamento da dentina previamente à cimentação de pinos de fibra de vidro em dentes irradiados e não irradiados, uma vez que contribui para a longevidade da interface adesiva.

Abstract

LOPES, F.C. **Effect of carbodiimide and chlorhexidine on the longevity of resin cement to root dentine bond strength and on the chemical composition and structure of dentin collagen after radiotherapy.** 2018, 146p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

This study evaluated the effect of carbodiimide (EDC) and chlorhexidine (CHX) on the bond strength (BS) of resin cement to root dentin and on the chemical composition and structure of dentin collagen of teeth submitted to radiotherapy. 120 maxillary canines were selected and distributed in 2 groups: non-irradiated (n=60) and irradiated (30 cycles of 2Gy, total 60Gy) (n=60). The teeth were sectioned, and the roots were used for BS analysis while the remaining coronary was subjected to chemical analysis. 40 remaining coronal fragments, 20 non irradiated and 20 irradiated, were sectioned and polished to obtain 40 intraradicular dentin blocks (3x3x2mm), distributed according to the dentin treatment (n=10): CHX and EDC. The analysis was carried out in Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) before treatment (T0) and after 1 (T1), 3 (T3) and 5 (T5) minute immersion in solutions for the analysis of carbonate bands (C), amide I (AI), and ratio between the amide III and proline and hydroxyproline (AIII/PH) bands. The roots (16mm) were instrumented with Reciproc (R50) and filled with AH Plus. The post space was prepared and the samples were redistributed according to dentin treatment (n=20): saline solution (SF); CHX 2%; and EDC 0.5M. After drying the post space, fiberglass posts were cemented with RelyX U200. Then, slices were obtained and, in half of the specimens of each subgroup (n=10) the analyses were performed immediately; the others (n=10) were stored for 10 months before analysis. The most cervical slice of each third was subjected to push-out and failure pattern analysis (n=10), and the most apical slice submitted to the analysis of the adhesive interface in scanning electron microscopy (SEM) (n=5). The band areas and BS data were submitted to statistical analysis by the ANOVA and Tukey tests, the adhesive interface adaptation was submitted to the Kruskal-Wallis and Duns tests, and the chi-square test was used to evaluate the type of failure. There was no statistical difference for the areas of the C bands; for AI, there were differences between the experimental times ($P<0.0001$) independent of the radiotherapy and treatment factors, in which T3 and T5 presented higher values than T0 and T1 ($P<0.05$); the AIII/PH ratio was reduced by radiotherapy ($P<0.05$), and the EDC increased the AIII/PH values in T1, T3 and T5 in irradiated teeth ($P<0.05$), with similar values in non-irradiated teeth ($P>0.05$); for CHX, AIII/PH values were lower for all experimental times in both irradiated and non-irradiated ($P<0.05$) teeth. The irradiated specimens presented lower BS values (13.8 ± 4.3) than non-irradiated specimens (18.1 ± 3.1) ($P<0.001$). For the irradiated teeth, the BS values were lower for the SF and CHX ($P<0.001$), while EDC showed similar BS values to the non-irradiated teeth ($P=0.215$). For non-irradiated teeth, BS values were similar for teeth treated with SF, CHX, and EDC ($P>0.05$). Also, the BS reduced after 10 months for the group treated with SF and CHX ($P<0.001$), while EDC maintained the BS values ($P=0.236$), wherein EDC presented higher BS values than CHX ($P<0.001$), and CHX presented higher values than SF ($P<0.001$). The cervical third showed higher BS values when compared to the middle third ($P<0.001$), which in turn was higher than in the apical third ($P<0.001$). The failure pattern showed the occurrence of cohesive failures in dentin for the irradiated specimens, and the analysis of the adhesive interface in SEM revealed worse adaptation in teeth submitted to radiotherapy, in addition to fractures and microfractures in dentin. Regarding the dentin treatments, a better adaptation of the adhesive interface was observed with EDC treatment. Radiotherapy alters the secondary structure of collagen, resulting in the reduction of BS values and worse adaptation of the adhesive interface; and the dentin treatment with EDC returned the collagen integrity, and was the best alternative for surface treatment prior to the cementation of glass fiber posts in non-irradiated and irradiated teeth, since it contributed to the longevity of the adhesive interface.

Sumário

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	39
PROPOSIÇÃO	49
MATERIAIS E MÉTODOS	53
RESULTADOS.....	79
DISCUSSÃO	95
CONCLUSÕES	109
REFERÊNCIAS.....	113
ANEXO	137
APÊNDICES	143

Introdução

Anualmente são diagnosticados aproximadamente 640.000 novos casos de câncer de cabeça e pescoço no mundo, colocando-o como sétimo tipo de câncer mais comum (LO et al., 2017; GLOBOCAN, 2018; NESS-JENSEN et al., 2018; OCF, 2018). A expressão “câncer de cabeça e pescoço” envolve as neoplasias malignas localizadas no trato aerodigestivo, que compreende: cavidade bucal, faringe, laringe, glândulas salivares, cavidade nasal, seios paranasais e tireóide (JEMAL et al., 2008; LIESHOUT; BOTS, 2014; GAUDET et al., 2015; STENSON; POON, 2016; LO et al., 2017; GLOBOCAN, 2018; NESS-JENSEN et al., 2018), sendo que o carcinoma de células escamosas é o tipo histológico mais frequente, correspondente a 90% dos casos (CASIGLIA; WOO, 2001; GONÇALVES et al., 2014; RETTIG; D'SOUZA, 2015; SONG; STENSON; BROCKSTEIN, 2016; SHUI et al., 2018).

Os fatores causais do câncer de cabeça e pescoço podem estar associados a hábitos como consumo de álcool e tabaco (GAUDET et al., 2015; RETTIG; D'SOUZA, 2015; VOLTZKE et al., 2018), infecção pelo papiloma vírus humano (HPV) (GILLISON et al., 2012; SHUI et al., 2018), além da predisposição do paciente (JEMAL et al., 2011; RETTIG; D'SOUZA, 2015). As opções de tratamento para o câncer de cabeça e pescoço podem incluir cirurgia, radioterapia e quimioterapia, sendo que a indicação da modalidade de tratamento está relacionada à localização, grau de malignidade, estadiamento clínico do tumor e condição de saúde do indivíduo (FANUCCHI et al., 2006; AÇIL et al., 2007; JHAM et al., 2008; ROSALES et al., 2009; GLENNY et al., 2010; BESSEL et al., 2011; EPSTEIN; THARIAT; BENSADOUN, 2012; GAUDET et al., 2015; KHAN et al., 2016; KYRGIAS et al., 2016; FALK et al., 2017; MAZZOLA et al., 2018). Neste sentido, a radioterapia é amplamente utilizada, podendo ser empregada como terapia primária, coadjuvante ao tratamento cirúrgico e à quimioterapia, ou ainda como tratamento paliativo em

estágios finais e inoperáveis da doença (BESSEL et al., 2011; KYRGIAS et al., 2016; LIAO et al., 2016; FALK et al., 2017; MAZZOLA et al., 2018).

A radioterapia consiste na radiação ionizante de alta energia que interage com as células dando origem a elétrons que ionizam o meio e levam à ruptura das cadeias de ácido desoxirribonucleico (DNA) e à hidrólise da água, promovendo inibição da divisão celular e produção de radicais livres que resultam em destruição dos tecidos neoplásicos (CHAACHOUAY et al., 2011). A efetividade da radioterapia depende da radiosensibilidade dos tecidos e também da fase de divisão celular em que se encontram as células neoplásicas (GOHO, 1993; FANUCCHI et al., 2006; GLENNY et al., 2010; KHAW et al., 2014).

Embora o tratamento radioterápico seja realizado da maneira mais conservadora possível (FLETCHER, 1988; FERGUSON; STEVENS, 2007; JOINER; VAN DER KOGEL, 2009), dificilmente tecidos circunvizinhos sadios, como osso, mucosa, dentes e glândulas salivares, são preservados (KIELBASSA et al., 2006; FRÄNZEL; GERLACH, 2009; BRODY, 2013; GALETTI et al., 2014; KHAW et al., 2014). Os efeitos colaterais podem ser temporários, como perda de paladar, dor e sensibilidade de tecidos moles, infecções fúngicas, mucosite, osteorradionecrose dos maxilares, alterações no fluxo, secreção e composição da saliva; ou permanentes, como trismo, atrofia muscular na região dos maxilares e alterações na microbiota bacteriana (JANSMA et al., 1988; KIELBASSA et al., 1997; FERGUSON; STEVENS, 2007; EPSTEIN; THARIAT; BENSADOUN, 2012; MCCAUL, 2012; KHAW et al., 2014).

Além dos efeitos colaterais acima citados, estudos prévios demonstram que a radioterapia da região de cabeça e pescoço é capaz de promover alterações nos tecidos dentais mineralizados, tais como: diminuição da microdureza dentinária

(KIELBASSA et al., 1997; DE SIQUEIRA MELLARA et al., 2014; GONÇALVES et al., 2014; DE SÁ FERRERIRA et al., 2016; LIANG et al., 2016; QING et al., 2016; VELO et al., 2018), aumento da solubilidade (MARKITZIU et al., 1986), redução da estabilidade da junção amelodentinária (PIOCH; GOLFELS; STAEHLE, 1992; KIELBASSA et al., 1997), alterações nas cadeias peptídicas e desidratação das fibras colágenas (DZIEDZIC-GOCLAWSKA et al., 2005; SPRINGER et al., 2005; AÇIL et al., 2007; CHISTIakov; VORONOVA; CHISTIakov, 2008; KOCHUEVA; IGNATIEVA; ZAKHARKINA, 2012; GONÇALVES et al., 2014), obliteração dos túbulos dentinários decorrentes da degeneração dos processos odontoblásticos (GONÇALVES et al., 2014), alteração da composição química (REED et al., 2015; DE SÁ FERREIRA et al., 2016; QING et al., 2016; CAMPI et al., 2018; VELO et al., 2018) e desorganização do esmalte e da dentina (DE SIQUEIRA MELLARA et al., 2014; GONÇALVES et al., 2014), bem como o aumento da expressão das metaloproteinases (MCGUIRE et al., 2014; BONILLA, 2016).

Os efeitos colaterais temporários e permanentes, com destaque para a xerostomia e dificuldade de higienização bucal adequada em função do desenvolvimento de mucosite e rigidez muscular, associados à fragilização dos tecidos dentais mineralizados, resultam na ocorrência da cárie de radiação (KIELBASSA, 2000; JHAM et al., 2008; LIESHOUT; BOTS, 2014; GERMANO et al., 2015; GUPTA et al., 2015; DOBROŚ et al., 2016). As lesões de cárie de radiação são uma das principais complicações odontológicas de caráter permanente, diferindo das lesões convencionais por apresentarem rápida progressão e por atingir superfícies normalmente livres de cárie, como ponta de cúspides e faces livres (KIELBASSA et al., 2006; SILVA et al., 2009; BEECH et al., 2014; LIESHOUT; BOTS, 2014; GERMANO et al., 2015; GUPTA et al., 2015; DOBROŚ et al., 2016),

levando à severa destruição dos dentes (AL-NAWAS et al., 2000; GUPTA et al., 2015; DOBROŚ et al., 2016) que, em casos mais extremos, acarreta na destruição total da dentição originalmente saudável no período de um ano (DOBROŚ et al., 2016), além de provocar alterações pulpares e perirradiculares (SPRINGER et al., 2005; SHENOY et al., 2007; VIER-PELISSER et al., 2007; GUPTA et al., 2015; DOBROŚ et al., 2016).

Diante desses casos, a realização de procedimentos cirúrgicos é restrita devido ao risco de osteorradioneecrose (MOON et al., 2017; WANG et al., 2017), e todas as tentativas são feitas para manter até mesmo os dentes que apresentam perda total da estrutura coronária (AGGARWAL, 2009), sendo necessário o tratamento endodôntico e utilização de retentores intrarradiculares para devolver função ao elemento dental (VISSINK et al., 2003; FARIA E SILVA et al., 2007; AGGARWAL, 2009; MARTINS et al., 2016; PAIOLA et al., 2018; YAMIN et al., 2018).

Entre os retentores intrarradiculares disponíveis, os pinos de fibra de vidro são vantajosos por possuírem módulo de elasticidade semelhante ao da dentina, o que permite a distribuição da transmissão de forças extrínsecas às paredes dentinárias, e conseqüentemente minimiza o risco de fraturas radiculares verticais (AGGARWAL, 2009; KUMAR; RAO, 2015; PRADO et al., 2016; WANG; CHANG; LIN, 2016; YAMIN et al., 2018). Além disso, esses pinos possuem resistência mecânica, resistência à corrosão e apresentam vantagens estéticas (PEREIRA et al., 2015; GULDENER et al., 2016; PRADO et al., 2016).

A estabilidade dos pinos intrarradiculares está relacionada à integridade da interface pino, parede dentinária e cimento (UPADHYAYA et al., 2016), sendo que a interface adesiva em dentina é naturalmente susceptível à degradação a longo prazo (DE MUNCK et al., 2003; AGGARWAL, 2009; SCHEFFEL et al., 2015b), uma vez

que alterações de temperatura, umidade, reações químicas diversas impostas pelo ambiente bucal, bem como alterações químicas e morfológicas na estrutura dental interferem na constituição da mesma, podendo alterar sua resistência (DE MUNCK et al., 2003). Somado a isso, os procedimentos restauradores adesivos realizados em dentes irradiados apresentam como agravante a diminuição da resistência de união à dentina e a frequente ocorrência de falhas adesivas, coesivas em dentina e mistas (AGGARWAL, 2009; SOARES et al., 2010; ARID, 2015; MARTINS et al., 2016; PAIOLA et al., 2018; YAMIN et al., 2018), apresentando-se como grande desafio para a odontologia restauradora.

A degradação da interface adesiva está diretamente relacionada aos esforços mastigatórios e à absorção de água e enzimas proteolíticas provenientes do próprio substrato dentinário, ou de fontes exógenas como bactérias e saliva (HASHIMOTO et al., 2003; PASHLEY et al., 2004; HEBLING et al., 2005). Sendo assim, a utilização de substâncias com potencial de inibição de enzimas que degradam as fibrilas colágenas pode contribuir para a manutenção da durabilidade da interface adesiva (MAZZONI et al., 2014). Uma das substâncias utilizadas com o intuito de manter a estabilidade da interface adesiva é o digluconato de clorexidina, que atua como inibidor de metaloproteinases (HEBLING et al., 2005; MANFRO et al., 2012; DENG et al., 2013; ZHOU et al., 2013; MAZZONI et al., 2014; ALANDIA-ROMÁN et al., 2017; DURSKI et al., 2018) auxiliando a manutenção dos valores de resistência de união a longo prazo (FERRARI et al., 2004; CARRILHO et al., 2007; CARRILHO et al., 2010; RICCI et al., 2010; DURSKI et al., 2018).

Outra estratégia que tem sido estudada para melhorar a qualidade e estabilidade das interfaces adesivas é estimular a formação de ligações cruzadas entre as moléculas de colágeno, tornando as fibras colágenas mais resistentes à

degradação (SCHEFFEL et al., 2015b). Neste sentido, substâncias naturais e sintéticas como o glutaraldeído, a proantocianidina e a carbodiimida vêm sendo investigadas (BEDRAN-RUSSO et al., 2008; AL-AMMAR et al., 2009; BEDRAN-RUSSO et al., 2009; BEDRAN-RUSSO et al., 2010; SCHEFFEL et al., 2015a), sendo que a carbodiimida (1-Etil-3-[3-dimetilaminopropil] hidroclorito de carbodiimida ou EDC), isômero capaz de agregar aminoácidos em peptídeos e de inibir as metaloproteinases, tem se mostrado eficaz na prevenção da degradação da interface adesiva, aumentando a longevidade da mesma (SCHEFFEL et al., 2015b; SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016; ZHANG et al., 2016).

O desempenho do conjunto pino de fibra e cimento resinoso tem sido avaliado por meio do teste de resistência de união ao cisalhamento (*push-out*) (AGGARWAL, 2009; CASTELLAN et al., 2010; MARTINS et al., 2016; PAIOLA et al., 2018; YAMIN et al., 2018), uma vez que este se apresenta como um método rápido, de fácil execução, que permite a determinação da resistência de união nos diferentes terços do canal radicular (CASTELLAN et al., 2010; MANICARDI et al., 2011). Associado ao teste de *push-out* é apropriado que se empregue outras metodologias para obtenção de resultados complementares como a microscopia óptica e análise digital de imagens, microscopia confocal de varredura a laser e microscopia eletrônica de varredura para determinação do padrão de falha e avaliação microscópica da interface adesiva, permitindo a visualização da espessura da camada de cimento bem como a interação do mesmo com a superfície dentinária (ZHOU et al., 2013; MARTINHO et al., 2015; PELEGRINE et al., 2016; ROPERTO et al., 2016; SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016; SOUZA-GABRIEL et al., 2016).

Ainda, o estudo das alterações químicas que ocorrem na superfície dentinária após diferentes tratamentos têm sido realizados por meio de espectroscopia Raman,

espectroscopia de raios X por dispersão em energia e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (BACHMANN et al., 2005; SOARES et al., 2009; BOTTA et al., 2012; LOPES et al., 2016; ARAÚJO, 2017; LOPES et al., 2018). O uso da FTIR possibilita a identificação e caracterização das estruturas moleculares dos compostos orgânicos e inorgânicos presentes na dentina, de forma não destrutiva, por meio do espectro de absorção da amostra que é gerado a partir dos modos vibracionais das moléculas, criando parâmetros de comparação entre as superfícies analisadas (DI RENZO et al., 2001; ZHANG et al., 2010; ARAÚJO, 2017).

O aprimoramento nos protocolos clínicos para tratamento do câncer de cabeça e pescoço observado nas últimas décadas têm propiciado aumento da sobrevida e melhoria na qualidade de vida dos pacientes afetados (KYRGIAS et al., 2016; MAZZOLA et al., 2018). Os efeitos da radioterapia de cabeça e pescoço, principalmente em relação à cárie de radiação (JHAM et al., 2008), podem levar à necessidade de tratamento endodôntico e uso de retentores intrarradiculares para restauração da estrutura dental perdida (VISSINK et al., 2003; AGGARWAL, 2009; YAMIN et al., 2018). Entretanto, os procedimentos restauradores realizados em substrato irradiado são dificultados pela diminuição da resistência de união da interface adesiva em relação aos substratos não irradiados (AGGARWAL, 2009; SOARES et al., 2010; NAVES et al., 2012; ARID, 2015; MARTINS et al., 2016; PAIOLA et al., 2018; YAMIN et al., 2018). Sendo assim, torna-se importante verificar as alterações promovidas pela radioterapia na composição química, estrutura do colágeno dentinário, e longevidade da interface adesiva, bem como o efeito de solução indutora de ligações cruzadas (carbodiimida – EDC) e inibidoras de metaloproteinases (EDC e clorexidina) nos dentes irradiados.

Proposição

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência dos tratamentos da dentina com carbodiimida (EDC) e clorexidina em dentes previamente submetidos à radioterapia em relação:

- À composição química e estrutura do colágeno dentinário por meio de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier;
- À longevidade da resistência de união ao cisalhamento por extrusão (*push-out*) de cimento resinoso à dentina radicular;
- Ao padrão de falha ocorrido após o teste de *push-out* por meio de estereomicroscópio;
- À interface adesiva formada entre dentina radicular / cimento resinoso / pino de fibra de vidro por meio de microscopia eletrônica de varredura.

Materiais e Métodos

Delineamento experimental

Para facilitar a compreensão do presente estudo, os procedimentos experimentais foram organizados em duas etapas (Figura 1):

Avaliação da composição química e da estrutura do colágeno dentinário e;

Avaliação da resistência de união e da interface adesiva formada entre dentina radicular / cimento resinoso / pino de fibra de vidro.

Figura 1. Fluxograma da sequência metodológica utilizada nas etapas experimentais do presente estudo: SF: soro fisiológico (controle); CLX: digluconato de clorexidina 2%; EDC: carbodiimida 0,5M; T0: tempo zero; T1: tempo 1 (1 minuto de imersão em solução); T3: tempo 3 (3 minutos de imersão em solução); T5: tempo 5 (5 minutos de imersão em solução); MEV: microscopia eletrônica de varredura; FTIR: Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier.

Seleção da amostra

Após aprovação do projeto de pesquisa do presente estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (FORP-USP), processo nº 60934516.7.0000.5419 (Anexo 1), foram obtidos, junto ao Banco de Dentes da FORP-USP, caninos superiores unirradiculares recém extraídos por razões periodontais mantidos em solução de timol a 0,1%.

Os dentes foram lavados em água corrente por 24 horas e, em seguida, tiveram sua superfície radicular externa limpa por meio de raspagem com ultrassom (Profi II Ceramic, Dabi Atlante Ltda, Ribeirão Preto, SP, Brasil). Em seguida, foram examinados macroscopicamente e radiografados (Spectro 70X Eletronic, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, São Paulo) nos sentidos orto e mesioradial utilizando sensor digital (Fona CDRelite, Schick, DMM, Bandeirantes, PR, Brasil) com o objetivo de selecionar 120 dentes de acordo com os seguintes critérios: raiz reta e completamente formada, canal único, sem calcificações, reabsorções ou trincas e com relação de dimensão vestibulolingual e mesiodistal menor ou igual 1,5.

Os 120 caninos selecionados foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos (n=60), a saber: grupo I - controle (não irradiados) e grupo II - irradiados (submetidos à radioterapia fraccionada com raios-X de 6 MV) (Figura 1). Os dentes foram armazenados individualmente em tubos Eppendorf (Eppendorf do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil) com saliva artificial, renovada diariamente, e mantidos em estufa (37°C).

Protocolo de irradiação

Para a irradiação, os dentes do grupo II (n=60) foram dispostos em suportes plásticos de 81 poços, de maneira que todos os corpos de prova recebessem a mesma irradiação direta por unidade de área. Com o intuito de mantê-los em ambiente úmido, simulando as características da cavidade oral, durante a irradiação, cada poço foi preenchido com água deionizada/destilada, recobrando totalmente os dentes (Figura 2A). Ao final de cada irradiação, a água deionizada/destilada foi desprezada e os corpos de prova foram mantidos em saliva artificial a 37°C até o próximo ciclo, quando então a saliva foi novamente substituída por água deionizada/destilada.

Os dentes foram submetidos à irradiação em Acelerador Linear clínico (Elekta Synergy Platform, Elekta AB Stockholm, Suécia) (Figura 2B) do Centro de Tratamento de Radio-Oncologia (CTR) de Ribeirão Preto – SP, com energia de 6 megavolts (MV), dose total de 60 gray (Gy), em 30 frações por 6 semanas, com fração de dose de 2Gy/dia durante 5 dias consecutivos por semana (MARTINS et al., 2016; PAIOLA et al., 2018; YAMIN et al., 2018). Os suportes plásticos foram alinhados sobre a mesa de fibra de carbono, equidistantes do centro do feixe e interior do cone para garantir taxa de dose uniforme de 400 unidades motoras por minuto (UM/min) e entrega total da dose por fração (Figura 2C). A dose foi calculada e administrada na linha média do conjunto, dispostos por dois campos paralelos e opostos. O controle de qualidade foi realizado utilizando dosímetros Nanodot (Landauer, Inc., Glenwood, IL, EUA), sendo as leituras de dose realizadas na superfície dos suportes utilizados para calcular os tempos de tratamento “*beam-on*”. Os dosímetros foram colocados sob as placas irradiadas e calibrados de

acordo com as condições de feixe descritos anteriormente. Ao término da irradiação, os dentes foram novamente armazenados em saliva artificial a 37°C.

Figura 2. Irradiação dos espécimes: (A) Suporte plástico com os dentes posicionados e imersos em água destilada; (B) Acelerador linear de raios-X Elekta Synergy Platform do Centro de Tratamento em Radio-Oncologia (CTR) de Ribeirão Preto; (C) Alinhamento do suporte plástico de forma equidistante do centro do feixe e dentro do cone para garantir uma taxa de dose uniforme e a entrega total da dose por fração.

Após o protocolo radioterápico, tanto os dentes irradiados como os não irradiados foram seccionados próximo à junção cimento-esmalte, padronizando o comprimento das raízes em 16 mm (Figura 3C). Para isso, os dentes foram posicionados em placas de resina acrílica, com o eixo longitudinal paralelo à superfície das mesmas e fixados com cola quente. As placas foram individualmente acopladas à máquina de cortes Isomet 1000 (Buehler, Lake Forest, IL, EUA) (Figura 3A) e os dentes foram seccionados perpendicularmente ao seu longo eixo no sentido vestibulo-lingual (Figura 3B) com disco diamantado de 0,5 mm de espessura (South Bay Technology, San Clement, CA, EUA) e peso de 75 g, com velocidade constante de 350 rpm, sob refrigeração. Os remanescentes coronários foram separados para a avaliação da composição química e da estrutura do colágeno dentinário, e as raízes separadas para avaliação da resistência de união e da interface adesiva (Figura 3C), sendo inseridos

separadamente em tubos Eppendorf contendo 1 mL de saliva artificial e armazenados a 37°C.

Figura 3. Secção dos espécimes: (A) Máquina de corte Isomet 1000; (B) Espécime adaptado ao dispositivo de fixação na máquina de corte para corte da porção coronária do dente utilizando disco diamantado; (C) Raiz com comprimento padronizado em 16 mm utilizada para avaliação da resistência de união e da interface adesiva; e remanescente coronário destinados à avaliação da composição química e da estrutura do colágeno dentinário.

Avaliação da composição química e da estrutura do colágeno dentinário

Quarenta fragmentos coronários, 20 irradiados e 20 não irradiados, foram posicionados em placas de resina acrílica (Figura 4A) e fixados com cola quente (Figura 4B). As placas foram individualmente montadas em máquina de corte Isomet 1000 (Figura 4C) e os fragmentos seccionados perpendicular e paralelamente ao longo eixo do espécime com disco diamantado de 0,3 mm de espessura (South Bay Technology, San Clement, CA, EUA), à velocidade constante de 350 rpm, de forma a obter dois cortes com 4 mm de distância entre eles em cada posição (Figura 4D), obtendo-se 40 blocos (4 x 4 mm) de dentina intrarradicular cervical (Figura 4 E e F), que foram armazenados a 37°C.

Figura 4. Obtenção dos blocos de dentina intraradicular: (A) Remanescente coronário, destinado à avaliação da composição química e da estrutura do colágeno posicionado em placa de resina acrílica com o eixo longitudinal perpendicular à superfície das mesmas; (B) Remanescente coronário fixado com cola quente; (C) Placa de resina acrílica posicionada em máquina de corte para os cortes paralelos ao longo eixo do dente; (D) Remanescente coronário fixado em placa de resina acrílica após a realização dos cortes perpendicular e paralelamente ao longo eixo do espécime; (E) Fragmento de dentina intrarradicular com dimensão de 4 x 4 mm; (F) Fragmentos de dentina radicular obtidos evidenciando a superfície radicular interna avaliada (setas vermelhas).

Os 40 blocos de dentina intrarradicular foram planificados e polidos com lixa de granulação #1200 em máquina de polimento, sob refrigeração abundante, deixando as superfícies paralelas. Obteve-se assim amostras com dimensão final 3 x 3 x 2 mm, que foram lavadas com água destilada em cuba ultrassônica por 10 minutos. Foi aplicado na superfície das amostras ácido fosfórico 35% Ultra-Etch (Ultradent Products, South Jordan, UT, EUA) por 15 segundos, em seguida foi realizada lavagem com spray ar / água destilada por 15 segundos, e as mesmas foram armazenadas individualmente em tubos Eppendorf numerados contendo água destilada (37°C).

A análise da composição química e da estrutura do colágeno foi realizada utilizando o Espectrômetro no Infravermelho com Transformada de Fourier (Agilent 630 FTIR Spectrometer, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) com um detector DTGS (Figura 5A) do Laboratório do Departamento de Ciência

Macromolecular e Engenharia da Universidade Case Western Reserve. Para garantir que as análises em FTIR sempre fossem realizadas no mesmo ponto, uma broca esférica nº 1 em alta rotação foi utilizada para realizar marcações na lateral dos blocos.

Para obtenção dos dados iniciais de composição química e estrutura do colágeno (tempo zero - T0), os fragmentos foram posicionados sobre a janela de diamante, em um acessório de reflexão totalmente atenuada (ATR) com diâmetro de 2 mm, e mantidos em posição com auxílio de uma prensa. Inicialmente, o sistema foi calibrado de acordo com as instruções do fabricante. Foram obtidos 3 espectros FTIR de cada amostra, no mesmo ponto, com resolução de $0,5\text{ cm}^{-1}$, em 50 escaneamentos no intervalo de $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$, com auxílio do *software* MicroLab (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) (Figura 5B).

Figura 5. (A) Espectrômetro no Infravermelho com Transformada de Fourier Agilent 630. (B) *Software* MicroLab.

As faixas de infravermelho consideradas para este estudo foram: 850 cm^{-1} (carbonato), 960 cm^{-1} (fosfato), 1630 cm^{-1} (amida I), 1240 cm^{-1} (amida III), e 1450 cm^{-1} (prolina e hidroxiprolina) (Figura 6). Os espectros foram normalizados pela banda de fosfato e as áreas das outras bandas foram calculadas utilizando o

software Microcal Origin 6 (Microcal Origin Software, MA 01060, Northampton, EUA), sendo considerada a média das áreas calculadas para comparação entre os grupos. Para avaliar a integridade da hélice tripla de colágeno, as taxas de absorção das bandas $1240\text{ cm}^{-1}/1450\text{ cm}^{-1}$ foram utilizadas, de forma que quando essa relação é mais próxima de 0,5, a integridade da hélice tripla de colágeno está comprometida; e se igual ou superior a 1, a integridade da ligação amida III e C-H do anel de pirrolidina da hélice tripla de colágeno tipo I é mantida (GEORGE; VEIS, 1991; TONHI; PLEPIS, 2002; BOTTA et al., 2012).

Figura 6. Espectro de absorvância da dentina normalizado pela banda de fosfato (PO_4^{3-}) 960 cm^{-1} , evidenciando as bandas de carbonato (CO_3^{2-}) 850 cm^{-1} , amida III (AIII) 1240 cm^{-1} , prolina e hidroxiprolina (PH) 1450 cm^{-1} e amida I (AI) 1630 cm^{-1} .

Vinte amostras ($n=20$) de cada grupo (não irradiadas e irradiadas) foram submetidas ao tratamento com uma das seguintes soluções ($n=10$): clorexidina 2% ou carbodiimida 0,5 M (Tabela I) (Figura 1). As amostras de foram imersas na solução pelo tempo determinado, em seguida imersas em água destilada durante 30 segundos, secas com papel absorvente e imediatamente avaliadas por FTIR. Este procedimento foi repetido para obter dados após 1 (T1), 3 (T3) e 5 (T5) minutos de imersão, seguindo o mesmo protocolo descrito para a análise em T0.

As soluções foram renovadas antes de cada período de imersão para simular condições clínicas e para evitar a saturação, e todos os procedimentos foram realizados à temperatura ambiente (25°C).

Tabela I. Soluções, concentração e fabricante.

Solução	Concentração	Fabricante
Soro Fisiológico	Solução isotônica de cloreto de sódio a 0,9%	Laboratório Arboreto, Juiz de Fora, MG, Brasil
Digluconato de Clorexidina	Solução aquosa a 2%	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA
1-Etil-3-[3-dimetilaminopropil] hidrocloreto de carbodiimida ou EDC	Solução aquosa 0,5 M	ProteoChem, Denver, CO, EUA

Avaliação da resistência de união e da interface adesiva formada entre dentina radicular / cimento resinoso / pino de fibra de vidro

Inicialmente, as raízes tiveram o canal radicular irrigado com 2 mL de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% com seringa plástica descartável (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, EUA) e agulha NaviTip de diâmetro 0,30 mm (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, EUA). Foi realizada a exploração do canal radicular com lima tipo K #15 de aço inoxidável (Dentsply Sirona Endodontics, Ballaigues, Suíça) de forma passiva, até que sua ponta coincidissem com o forame apical, alcançando o comprimento real do dente. Desta medida subtraiu-se 1,0 mm para o estabelecimento do comprimento de trabalho (CT).

O preparo biomecânico foi realizado pela técnica de instrumentação por movimento recíprocante com o instrumento Reciproc 50.05 (VDW GmbH, Munique, Alemanha), que foi acoplado ao contra ângulo redutor 6:1 Sirona (SN 25185; VDW

GmbH, Munique, Alemanha) no micromotor SMR 114058 (VDW GmbH, Munique, Alemanha) que, por sua vez, estava conectado ao motor elétrico VDW Silver (VDW GmbH, Munique, Alemanha). O instrumento foi usado de forma passiva, com movimentos de bicada e, a cada 3 avanços, foi retirado do canal e limpo com gaze, até atingir o CT. A cada retirada do instrumento, foi realizada irrigação com NaOCl a 1%, aspiração e inundação dos canais com seringa plástica descartável, agulha NaviTip.

Após a instrumentação, foi realizada a irrigação final com 2 mL de ácido etilenodiaminotetracético a 17%, por 5 minutos, seguido de irrigação com 5 mL de NaOCl a 1%. A secagem dos canais foi inicialmente realizada com cânula de aspiração Capillary Tip (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, EUA) seguido do uso de cones de papel absorvente R50 (Reciproc, VDW GmbH, Munique, Alemanha).

Em seguida, a adaptação do cone de guta-percha R50 (Reciproc, VDW GmbH, Munique, Alemanha) no CT foi verificada por meio de radiografias digitais obtidas nos sentidos orto e mesioradial para a realização da obturação pela técnica do cone único. O cimento obturador AH Plus (Dentsply De Trey, Konstanz, Alemanha) foi manipulado de acordo com as instruções do fabricante e inserido no canal radicular com auxílio de lima tipo K #40 (Dentsply Sirona Endodontics, Ballaigues, Suíça), com movimentos de rotação no sentido anti-horário (SCHÄFER; KÖSTER; BÜRKLEIN, 2013) e o cone foi untado com cimento e introduzido com movimento circular e gradativo até o CT. O excesso do material obturador na entrada do canal foi removido com auxílio de condensador de Paiva (Golgram Indústria e Comércio de Instrumentos Odontológicos Ltda, São Caetano do Sul, SP, Brasil) previamente aquecido em lamparina. A seguir, com a guta-

percha ainda plastificada, realizou-se a condensação vertical com condensador de Paiva à frio, com pressão leve em direção apical por 5 segundos. A limpeza final da entrada do canal radicular foi realizada com esponja umedecida em álcool e a qualidade da obturação foi verificada por meio de radiografias digitais orto e mesioradial. Os espécimes foram armazenados em Eppendorfs numerados e mantidos em umidade relativa a 37°C, permanecendo nestas condições pelo período de três vezes o tempo de endurecimento do cimento fornecido pelo fabricante.

Após este período, as raízes foram preparadas para cimentação dos pinos de fibra de vidro Biolight Dual® (Synca, Marion, Le Gardeur, Canadá). Inicialmente foi feita a desobturação com broca de Largo nº 2 (Dentsply Maillefer, Petrópolis, RJ, Brasil) (Figura 7A) na profundidade de 12 mm deixando 4 mm apicais (Figura 7B) e, em seguida foi realizado o preparo do espaço utilizando-se as brocas do kit Biolight Dual® (Synca, Marion, Le Gardeur, Canadá), inicialmente com a nº 0,5, de menor diâmetro, seguido da nº 1 e finalizando com a nº 2 correspondente ao pino nº 2 Biolight Dual® utilizado (Figura 7C e D). As brocas foram substituídas após 5 preparos e a limpeza das paredes e os 4 mm de guta-percha remanescentes foram confirmados por meio de radiografia digital. Os canais radiculares preparados foram irrigados com 5 mL de água destilada e secos com cânulas de aspiração Capillary Tip.

Figura 7. Preparo do conduto radicular para o pino: (A) Broca de Largo nº 2; (B) Broca de Largo nº 2 inserida no canal mostrando a remoção de fragmentos de guta-percha; (C) Brocas nº 2 do kit Biolight Dual®; (D) Broca Biolight Dual® nº 2 inserida no canal com cursor para determinação de 12 mm durante o preparo para a cimentação do pino.

Tratamento da dentina

Após lavagem e secagem do espaço protético, os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em 3 subgrupos (n=10) de acordo com as soluções utilizadas para o tratamento da superfície: soro fisiológico; clorexidina 2%; e carbodiimida 0,5M (EDC) (Tabela I) conforme fluxograma apresentado na Figura 1. As soluções foram aplicadas por 60 segundos com auxílio de seringa plástica descartável e agulha NaviTip. Os canais foram secos, por meio da aspiração com cânulas de aspiração Capillary Tips e cones de papel absorvente.

Os pinos de fibra de vidro (Figura 8A) foram imersos em álcool etílico 70°GL por 10 minutos, secos com jatos de ar, e receberam uma camada de silano (Angelus Ind Prod Odontológicos S/A, Londrina, PR, Brasil, Lote nº 38562) com auxílio de microbrush (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) deixando agir por 60

segundos, seguido de nova secagem com jatos de ar. Antes do processo de cimentação, as raízes foram envoltas com cera 7 para evitar polimerização adicional do cimento (Figura 8B). O cimento RelyX U200 (Tabela II) foi manipulado de acordo com as instruções do fabricante, inserido no canal radicular com lima tipo K #50 (Dentsply Sirona Endodontics, Ballaigues, Suíça) e aplicado na superfície dos pinos, que foram em seguida cimentados nos canais radiculares com pressão digital. Mantendo o pino em posição, o excesso de material foi removido e a fotoativação realizada (Figura 8C) por 20 segundos com fotopolimerizador KaVo Wireless (Kavo, Joinville, Brasil) e potência de 1100mW/cm². A embocadura do canal foi selada com ionômero de vidro (Vidrion R, SSWhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e os espécimes foram armazenados em estufa a 37°C, onde foram mantidos por 7 dias. Todos os procedimentos envolvendo o preparo biomecânico, obturação, preparo do conduto e cimentação dos pinos foram realizados pelo mesmo operador.

Figura 8. Sequência para a cimentação do pino: (A) Pino de fibra de vidro Biolight Dual® nº 2; (B) Raiz envolta com cera 7, evidenciando o conduto radicular preparado para a cimentação do pino; (C) Fotoativação com fotopolimerizador KaVo Wireless.

Tabela II. Marca comercial, composição e número de lote de acordo com as informações do fabricante.

Material	Principais Componentes	Lote	Fabricante
RelyX U200	Pasta Base: pó de vidro tratado com silano, ácido 2- propenóico, 2-metil 1,1'-[1-(hydroxymetil)-1, 2- [ethanodlyl] éster, dimetacrilato de trietileno glicol (TEG-DMA), sílica tratada com silano, fibra de vidro, persulfato de sódio e per-3,5,5-trimetil-hexanoato t-butila	639881	3M/ESPE, St Paul, EUA
	Pasta Catalisadora: pó de vidro tratado com silano, dimetacrilato substituto, sílica tratada com silano, p-toluenosulfonato de sódio, 1-benzil-5-fenil-ácido bórico, sais de cálcio, 1,12-dodecano dimetacrilato, hidróxido de cálcio e dióxido de titânio		

Para obtenção dos *slices* para o teste de *push-out* e MEV, os espécimes foram posicionados em placas de resina acrílica, com o eixo longitudinal paralelo à superfície das mesmas (Figura 9A) e fixados com cola quente (Figura 9B), de forma que as raízes fossem seccionadas perpendicularmente ao seu longo eixo, no sentido mesiodistal, com disco diamantado de 0,3 mm de espessura (Figura 9D) sob refrigeração constante à velocidade de 350 rpm e peso de 75 g, em máquina de corte de precisão Isomet 1000 (Figura 9C).

Figura 9. Obtenção dos *slices* para a realização do *push-out* e MEV: (A) Espécimes posicionados com o eixo longitudinal paralelo à superfície da placa de resina acrílica; (B) Espécime fixado com cola quente; (C) Placas de resina acrílica acoplada à máquina de corte Isomet 1000; (D) Disco diamantado de 0,3 mm de espessura.

De cada terço da raiz foram obtidos três *slices* de dentina com 1,0 mm ($\pm 0,1$ mm) de espessura. Os primeiros *slices* de cada terço foram separados para o teste de *push-out* ($n=10$), totalizando três *slices* por raiz, e os *slices* mais apicais de cada terço foram separados para análise em microscopia eletrônica de varredura ($n=5$) (Figura 10). Em metade dos espécimes de cada subgrupo ($n=10$), as análises foram realizadas imediatamente, as demais ($n=10$) foram armazenadas a 37°C em água destilada contendo 0,4% de azida de sódio, renovada semanalmente, por 10 meses antes de serem submetidas às análises a fim de observar a longevidade da resistência de união e da interface adesiva.

Figura 10. Representação esquemática da distribuição dos *slices* para o teste de *push-out*, avaliação do padrão de falha e análise em MEV durante a avaliação inicial e após 10 meses.

Teste de resistência de união ao cisalhamento por extrusão (*push-out*)

Os *slices* foram posicionados em bases metálicas de aço inoxidável acopladas na porção inferior da máquina de ensaios universal Instron 2519-106 (Instron, Canton, MA, EUA) (Figura 11A), com orifícios de 1,2 mm, 1,5 mm e 2,5 mm de diâmetro em sua porção central, confeccionadas para os diferentes tamanhos de *slices* (Figura 11B). O corpo de prova foi posicionado na mesma direção do orifício da base metálica com sua face cervical voltada para baixo (Figura 11C). Esta metodologia assegurou o alinhamento preciso e reproduzível do teste, de modo que a haste utilizada ficasse centralizada no material obturador e não entrasse em contato com a dentina, quando o material fosse pressionado e deslocado. Foram utilizadas hastes metálicas com ponta ativa de 0,8 mm, 1,0 mm, 1,5 mm de diâmetro (Figura 11D), compatíveis com o diâmetro do pino nos terços cervical, médio e apical, respectivamente (Figura 11E) (MARTINS et al., 2016; PEREIRA et al., 2017; PAIOLA et al., 2018; YAMIN et al., 2018). Essas hastes foram fixadas na porção superior da máquina de ensaio e posicionadas sobre o

material intracanal. A máquina de ensaios foi acionada com velocidade constante de 0,5 mm/min até a tensão máxima.

Figura 11. Ensaio mecânico de resistência de união ao cisalhamento por extrusão: (A) Máquina de ensaio universal Instron 2519-106; (B) Bases metálicas de aço inoxidável com orifícios de 2,5 mm, 1,5 mm e 1,2 mm de diâmetro em sua porção central (da direita para esquerda); (C) Posicionamento do conjunto haste, *slice* e base; (D) Hastes metálicas com ponta ativa de 1,5 mm, 1,0 mm e 0,8 mm de diâmetro (de cima para baixo); (E) Hastes metálicas com pontas ativas compatíveis ao diâmetro do material intracanal utilizadas para o teste de *push-out* dos respectivos *slices* do terço cervical, médio e apical (de cima para baixo).

A força necessária para o deslocamento foi aferida em Newtons (N). Para calcular a resistência de união, a força resultante foi convertida em MegaPascal (MPa), pela divisão da área lateral do material intracanal. Para o cálculo exato da área lateral aderida (S_L), o aspecto geométrico do material intracanal (cimento resinoso + pino de fibra de vidro) foi considerado de acordo com o nível do corte realizado para obtenção dos *slices*. Para isso, antes da realização do teste, foram mensurados a altura (h) de cada *slice* com auxílio de um paquímetro digital (Digimess, Shiko Precision Gaging Ltd, China) como também o raio (maior e menor) por meio de estereomicroscópio (Leica, M165C, Leica Microsystems, Alemanha) usando o software Las v4.4 (Leica Microsystems, Alemanha) (Figura 12).

Figura 12. Tela do software mostrando a delimitação do material restaurador intracanal para a mensuração do raio no estereomicroscópio Leica M165C, em que a ferramenta *Circle Tool (Three Point Type)* permite, por meio da demarcação de 3 pontos na interface adesiva, a determinação do raio.

Assim, a área de adesão do cimento (em mm²) foi calculada pela fórmula da área lateral (SL):

$$S_L = \pi (R + r) \sqrt{h^2 + (R - r)^2}$$

Nesta fórmula, “R” é a medida do raio do pino de fibra e cimento resinoso em sua porção coronal, “r” é medida do raio do pino de fibra e cimento resinoso em sua porção apical e “h” é a altura/espessura do *slice*. A partir destes dados, foi calculado a resistência de união (RU), em MPa, dividindo-se a força necessária para o deslocamento do pino de fibra de vidro pela sua área lateral (RU=F/SL).

Após o teste de resistência de união, os *slices* foram avaliados quanto ao tipo de padrão de falha ocorrida em estereomicroscópio Leica M165C com aumento de 25x. As falhas observadas foram determinadas em percentuais e classificadas em: a) adesiva à dentina: se o material intracanal deslocou da dentina; b) adesiva ao cimento resinoso: se pino de fibra de vidro deslocou do cimento resinoso; c) mista: quando o pino de fibra de vidro deslocou tanto da

dentina quanto do cimento resinoso; d) coesiva da dentina: quando ocorreu fratura na dentina; e) coesiva do pino de fibra de vidro: quando ocorreu fratura no pino de fibra de vidro (Figura 13).

Figura 13. Imagens representativas dos tipos de falhas observadas após o teste de resistência de união: (A) Adesiva à dentina, evidenciando ausência de cimento resinoso nas paredes dentinárias (asterisco vermelho) e presença de cimento resinoso ao redor do pino de fibra de vidro (seta vermelha); (B) Adesiva ao pino, evidenciando presença de cimento resinoso nas paredes dentinárias (seta vermelha) e ausência de cimento resinoso ao redor do pino de fibra de vidro (asterisco vermelho); (C) Adesiva mista, evidenciando presença de cimento resinoso nas paredes dentinárias (seta vermelha) e ao redor do pino de fibra de vidro (seta vermelha); (D) Coesiva da dentina, evidenciando fratura na dentina (seta vermelha); (E) Coesiva do pino de fibra de vidro, evidenciando fratura no pino.

Análise da interface adesiva por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises em MEV foram realizadas na face cervical dos *slices* mais apicais de cada terço (cervical, médio e apical). Foram selecionados aleatoriamente cinco *slices* por terço de cada subgrupo, totalizando quinze *slices* de cada subgrupo.

O preparo para MEV foi realizado a partir do polimento dos *slices* de dentina com lixas d'água #400, #600 e #1200 (Norton Abrasivos Ltda, São Paulo, SP, Brasil) e pastas de alumina de 1,0 e 0,3 μm (Arotec S/A Ind. e Comércio, São Paulo, SP, Brasil), sob refrigeração constante, com disco de feltro em máquina de polimento (Arotec APL- 4, Arotec S/A Ind. e Comércio, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, os *slices* foram colocados em suporte plástico para facilitar a imersão e

troca das soluções nas etapas seguintes.

Inicialmente os *slices* foram enxaguados em água corrente, lavados em cuba ultrassônica (Ultrasonic Cleaner, 1440D, Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil) com água destilada e deionizada por 10 minutos, e superficialmente descalcificados em ácido clorídrico (HCl) 6M por 30 segundos e desproteinizados em NaOCl 2% durante 10 minutos.

Após isso, os espécimes foram novamente enxaguados com água deionizada, e fixados com glutaraldeído 2,5% tamponado ao pH de 7,4 com 0,1M de cacodilato de sódio, por 12 horas a 4°C. Após a fixação, os *slices* de dentina foram imersos em cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7,4) por 1 hora, com 3 trocas sucessivas, e enxágue com água destilada por 1 minuto. Na sequência, passaram pelo processo de desidratação em bateria alcoólica de concentrações crescentes 25%, 50%, 75%, 95% por 20 minutos de imersão em cada, e em concentração de 100% por 1 hora, seguido de imersão em hexametildisilizano (HMDS, Ted Pella, Redding, CA, EUA) por 10 minutos em capela de exaustão (Permution, E. J. Krieger & Cia Ltda, Indústria Brasileira, Curitiba, PR, Brasil).

Uma vez desidratados, os espécimes foram fixados em *stub* metálico utilizando fita adesiva dupla face (Electron Microscopy Sciences, Washington, DC, EUA), e receberam uma cobertura ultrafina de material eletricamente condutor - liga ouro-paládio (30 nm de espessura) (Figura 14A), com o auxílio do aparelho metalizador Desk II Denton Vacuum (Moorestown, New Jersey, NJ, EUA) sob vácuo. A análise foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (JSM-6610LV, JEOL, Akishima, Japão) (Figura 14B), operando a 20Kv, com auxílio do programa *SEM Control User Interface v.3.06* (Figura 14C).

Figura 14. (A) Slices fixados em *stub* metálico e recobertos com camada ultrafina de ouro-paládio. (B) Microscópio eletrônico de varredura JSM-6610LV. (C) Programa *SEM Control User Interface* v.3.06.

Foram feitas fotomicrografias em aumentos de 100, 1000, 2000 e 4000 vezes, sendo que com aumento de 1000X foram realizadas doze mensurações em pontos equidistantes na interface adesiva (Figura 15) para identificar espaços vazios (lacunas ou *gaps*).

Figura 15. Ilustração da metodologia de mensuração de lacunas ou *gaps* em 12 pontos na interface entre dentina e cimento resinoso. Legenda - *p*: pino de fibra de vidro; *c*: cimento resinoso; *d*: dentina radicular.

Conforme metodologia descrita em estudo prévio (BALGUERIE et al., 2011), a adaptação do cimento na parede do canal radicular foi classificada de acordo com o seguintes critérios: a) boa: a maioria das seções não mostrou lacunas entre

o cimento e a dentina; b) razoável: a maioria das seções mostrou algumas pequenas falhas ($<1\mu\text{m}$) entre o cimento e a dentina; c) ruim: a maioria das seções mostrou muitas lacunas (entre 1 e $10\mu\text{m}$) entre o cimento e a dentina; d) sem adaptação: a maioria das seções não mostrou adaptação entre o cimento e a dentina (lacunas $> 10\mu\text{m}$).

Análise Estatística

Uma vez que os dados de resistência de união e das áreas das bandas avaliadas apresentaram distribuição normal (Shapiro-Wilk, $P>0,05$) e homogeneidade de variância (teste de Levene, $P>0,05$), foram utilizados testes paramétricos para a análise estatística dos dados.

A análise de variância (ANOVA dois fatores) com parcela subdividida foi utilizada para avaliar a influência dos fatores radioterapia (não irradiado e irradiado), tratamento da dentina (clorexidina e carbodiimida - EDC) e a sub-parcela tempo de aplicação (T0 - inicial, T1 – 1 minuto, T3 – 3 minutos e T5 – 5 minutos) nos valores das áreas das bandas avaliadas. Foi utilizado o teste de Tukey para comparações múltiplas entre os grupos.

A análise de variância (ANOVA três fatores) foi utilizada para avaliar a influência dos fatores momento da avaliação (inicial e após 10 meses), radioterapia (não irradiado e irradiado) e solução (soro fisiológico, clorexidina e carbodiimida - EDC) nos valores de resistência de união. A análise de variância (ANOVA) com parcela subdividida foi utilizada para avaliar a influência dos fatores radioterapia (não irradiado e irradiado) e subparcela terços radiculares (cervical, médio e apical). O teste do qui-quadrado foi utilizado para avaliar o tipo de falha após o teste de resistência de união. Já os testes não paramétricos de Mann-Whitney e

Kruskal-Wallis ($P < 0,05$), seguido do teste de Dunn's para comparações múltiplas, foram utilizados para análise dos dados referentes à adaptação do material cimento resinoso à parede dentinária.

Os testes estatísticos foram realizados no software SAS 9.1 (SAS, Cary, NC, EUA), sendo o nível de probabilidade fixado em 95%.

Resultados

Avaliação da composição química e da estrutura do colágeno dentinário

Os resultados da análise de variância para áreas da banda de carbonato não apresentaram diferença estatística para os fatores analisados, bem como para as interações dos fatores ($P>0,05$) (Tabela III).

Tabela III. Resultados da análise de variância para a comparação entre radioterapia, tratamento da dentina e tempo experimental em relação aos dados das áreas da banda de carbonato (u.a.).

Fonte de Variação	dF	Denominador dF	F	P
Radioterapia	1	36	0,04	0,8372
Tratamento da dentina	1	36	0,04	0,8415
Tempo experimental	3	108	0,06	0,9814
Radioterapia/Tratamento da dentina	1	36	0,07	0,7957
Radioterapia/Tempo experimental	3	108	0,03	0,9935
Tratamento da dentina/Tempo experimental	2	108	0,31	0,8186
Radioterapia/ Tratamento da dentina/Tempo experimental	3	108	0,05	0,9837

Os resultados da análise de variância para as áreas de banda de amida I mostraram diferenças estatísticas entre os tempos experimentais ($P<0,0001$) (Tabela IV), independentemente dos fatores radioterapia e tratamento de dentina, em que T3 e T5 apresentaram valores de amida I maiores que T0 e T1 ($P<0,05$; Tabela V).

Tabela IV. Resultados da análise de variância para a comparação entre radioterapia, tratamento da dentina e tempo experimental em relação aos dados das áreas das bandas de amida I (u.a.).

Fonte de Variação	dF	Denominador dF	F	P
Radioterapia	1	36	0,02	0,8831
Tratamento da dentina	1	36	0,14	0,7150
Tempo experimental	3	108	9,66	<0,0001
Radioterapia/Tratamento da dentina	1	36	0,03	0,8573
Radioterapia/Tempo experimental	3	108	0,39	0,7623
Tratamento da dentina/Tempo experimental	3	108	0,09	0,9662
Radioterapia/Tratamento da dentina/Tempo experimental	3	108	0,14	0,9388

Tabela V. Média e desvio padrão da área das bandas de amida I para os dentes irradiados e não irradiados nos diferentes tratamentos e tempos experimentais (u.a.).

Tempo	Não irradiado		Irradiado		Média Agrupada
	Clorexidina	EDC	Clorexidina	EDC	
T0	54,15 ± 6,37	53,81 ± 4,87	54,67 ± 9,58	55,31 ± 8,34	54,49 ± 7,24 A
T1	56,70 ± 6,45	55,05 ± 7,12	56,87 ± 8,58	58,69 ± 8,42	56,83 ± 7,51 A
T3	62,83 ± 6,05	65,16 ± 18,73	61,44 ± 5,92	62,28 ± 10,90	62,93 ± 11,26 B
T5	62,08 ± 8,42	63,45 ± 17,45	62,48 ± 7,86	64,18 ± 17,90	63,05 ± 13,25 B

*Letras diferentes indicam diferença estatística entre os diferentes momentos avaliados ao teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os resultados da análise de variância para os valores de razão entre as áreas de bandas de amida III / prolina e hidroxiprolina mostraram diferenças estatísticas entre os fatores radioterapia ($P < 0,0001$), bem como nas interações entre radioterapia e tratamento da dentina ($P < 0,0001$), radioterapia e tempo experimental ($P < 0,0001$), e entre os três fatores, radioterapia, tratamento da dentina e tempo experimental ($P < 0,0001$) (Tabela VI).

Tabela VI. Resultados da análise de variância para a comparação entre radioterapia, tratamento da dentina e tempo experimental, em relação aos dados da razão entre as áreas das bandas amida III / prolina e hidroxiprolina (u.a.).

Fonte de Variação	dF	Denominador dF	F	P
Radioterapia	1	36	286,19	<0,0001
Tratamento da dentina	1	36	2,71	0,1085
Tempo experimental	3	108	0,89	<0,4501
Radioterapia/Tratamento da dentina	1	36	80,91	<0,0001
Radioterapia/Tempo experimental	3	108	22,83	<0,0001
Tratamento da dentina/Tempo experimental	2	108	0,16	0,9262
Radioterapia/Tratamento da dentina/Tempo experimental	3	108	7,94	<0,0001

No tempo T0, os valores da razão amida III / prolina e hidroxiprolina foram reduzidos pelo protocolo de radioterapia ($P < 0,05$). No entanto, a aplicação de EDC em T1, T3 e T5 aumentou os valores de razão amida III / prolina e hidroxiprolina em dentes irradiados ($P < 0,05$), sendo esses valores semelhantes aos dentes não irradiados ($P > 0,05$). A aplicação de clorexidina em dentes não irradiados não alterou

os valores da razão amida III / prolina e hidroxiprolina. Já a aplicação de clorexidina em dentes irradiados aumentou a razão amida III / prolina e hidroxiprolina no T5 quando comparado ao T0 e T1 ($P>0,05$), sendo que em T3 apresentou valores intermediários, ora semelhantes ao T0 e T1, ora semelhantes ao T5; entretanto os valores em T1, T3 e T5 foram significativamente diferentes entre dentes não irradiados e irradiados para mesmo tratamento e tempo experimental (Tabela VII).

Tabela VII. Média e desvio padrão da razão entre as áreas dos picos amida III / prolina e hidroxiprolina para dentes irradiados e não irradiados nos diferentes tratamentos e tempos experimentais (u.a.).

Tempo	Não irradiado		Irradiado	
	Clorexidina	EDC	Clorexidina	EDC
T0	1,44 ± 0,08 *Aa	1,48 ± 0,19 *Aa	0,69 ± 0,18 *Ab	0,65 ± 0,10 *Ab
T1	1,36 ± 0,09 *Aa	1,12 ± 0,33 Bb	0,69 ± 0,12 *Bb	1,05 ± 0,11 Aa
T3	1,33 ± 0,26 *Aa	1,06 ± 0,14 Bb	0,77 ± 0,13 *Bab	1,13 ± 0,19 Aa
T5	1,31 ± 0,10 *Aa	1,08 ± 0,14 Bb	0,89 ± 0,17 *Ba	1,20 ± 0,31 Aa

*Letras maiúsculas diferentes indicam diferença nas linhas (entre diferentes tratamentos) para cada condição de radioterapia; letras minúsculas indicam diferença nas colunas (entre diferentes tempos experimentais) para cada tratamento; *indica diferença significativa entre dentes não irradiados e irradiados para mesmo tratamento e tempo experimental ao teste de Tukey ($P<0,05$).

Avaliação da resistência de união e da interface adesiva formada entre dentina radicular / cimento resinoso / pino de fibra de vidro

Os valores originais dos dados relativos à avaliação da resistência de união ao cisalhamento por extrusão inicial e após 10 meses (longevidade) estão dispostos no Apêndice I e II, respectivamente. Os dados de média e desvio padrão para longevidade, radioterapia, tratamento da dentina e terços radiculares são apresentados na Tabela VIII.

Tabela VIII. Média e desvio padrão, em megapascal (MPa), de resistência de união do material restaurador à dentina nos terços cervical, médio e apical dos diferentes subgrupos estudados.

Terço		Tratamento da dentina					
		Soro		Clorexidina		EDC	
		Inicial	10 meses	Inicial	10 meses	Inicial	10 meses
Não irradiado	C	21,06 ± 3,40	15,94 ± 2,53	20,87 ± 2,92	18,85 ± 2,78	22,81 ± 3,27	21,99 ± 3,03
	M	19,41 ± 3,65	14,09 ± 2,20	20,61 ± 3,63	17,28 ± 3,31	20,98 ± 4,81	20,12 ± 2,81
	A	15,87 ± 3,96	10,07 ± 2,20	16,22 ± 3,42	14,12 ± 3,53	18,04 ± 3,38	17,14 ± 2,62
Irradiado	C	17,47 ± 3,35	10,57 ± 2,77	18,22 ± 2,03	13,27 ± 2,69	21,65 ± 2,67	20,06 ± 2,85
	M	12,53 ± 1,68	7,99 ± 1,80	12,86 ± 1,58	10,78 ± 3,04	20,49 ± 3,08	18,13 ± 3,17
	A	8,49 ± 2,72	5,82 ± 2,24	9,35 ± 2,52	9,93 ± 3,39	16,46 ± 3,00	15,06 ± 2,59

*C: cervical; M: médio; A: apical.

A análise de variância três fatores evidenciou diferença estatisticamente significativa para os fatores radioterapia, tratamento da dentina e longevidade, e para a interação dos fatores radioterapia x tratamento da dentina, e tratamento da dentina x longevidade ($P < 0,001$), no entanto, para a interação dos fatores radioterapia x longevidade ($P = 0,957$) e radioterapia x tratamento da dentina x longevidade ($P = 0,622$) não foi observada diferença significativa (Tabela IX).

Tabela IX. Resultados da análise de variância para a comparação entre longevidade, radioterapia e tratamento da dentina em relação aos dados de resistência de união ao teste de *push-out*.

Fonte de Variação	dF	Soma dos quadrados	Média dos quadrados	F	P
Radioterapia	1	539,9	539,9	140,1	<0,001
Tratamento da dentina	2	787,7	393,8	102,2	<0,001
Longevidade	1	251,9	251,9	65,4	<0,001
Radioterapia/Tratamento da dentina	2	109,4	57,4	14,2	<0,001
Radioterapia/Longevidade	1	0,01	0,01	0,0	0,957
Tratamento da dentina/Longevidade	2	74,7	37,4	9,7	<0,001
Radioterapia/Tratamento da dentina/Longevidade	2	3,7	1,8	0,5	0,622
Resíduos	108	416,2	3,9		
Total	119	2186,6	18,4		

Em relação à irradiação, observa-se que os dentes submetidos à radioterapia apresentaram menor resistência de união ($13,8 \pm 4,3$) quando comparado aos dentes não irradiados ($18,1 \pm 3,1$) ($P < 0,001$). Quando avaliados os dentes submetidos à radioterapia, houve redução significativa nos valores de resistência de união para o tratamento da superfície com soro fisiológico e clorexidina ($P < 0,001$) em relação aos dentes não irradiados; já os dentes submetidos ao tratamento de superfície com EDC apresentaram valores similares de resistência de união ($P = 0,215$). Para os dentes não irradiados, os valores de resistência de união foram similares para os dentes submetidos ao tratamento de superfície com soro fisiológico, clorexidina e EDC ($P > 0,05$) (Tabela X).

Tabela X. Média e desvio padrão da resistência de união ao teste de *push-out* para os protocolos de radioterapia e diferentes tratamentos da dentina.

Tratamento da dentina	Não Irradiado	Irradiado
Soro	$16,1 \pm 3,2$ Aa	$10,5 \pm 3,0$ Bb
Clorexidina	$18,0 \pm 2,4$ Aa	$12,4 \pm 2,1$ Bb
EDC	$20,2 \pm 2,5$ Aa	$18,6 \pm 2,2$ Aa

*Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística nas linhas e letras minúsculas indicam diferença estatística nas colunas ao teste de Tukey ($P < 0,05$).

Quando avaliado a interação entre tratamento da dentina e longevidade, observou-se que a resistência de união reduziu significativamente após 10 meses para o grupo tratado com soro fisiológico e clorexidina ($P < 0,001$), já para o tratamento da dentina com EDC houve manutenção da resistência de união após 10 meses ($P = 0,236$). A resistência de união na avaliação inicial foi maior para o EDC quando comparado ao tratamento com soro fisiológico e clorexidina ($P < 0,001$), sem diferença estatística entre estes ($P = 0,648$). Já na avaliação após 10 meses, o EDC apresentou maior resistência de união que a clorexidina ($P < 0,001$), sendo o tratamento com clorexidina superior ao soro fisiológico ($P < 0,001$) (Tabela XI).

Tabela XI. Média e desvio padrão da resistência de união ao teste de *push-out* para os diferentes tratamentos da dentina nos diferentes momentos de avaliação.

Tratamento da dentina	Inicial	10 meses
Soro	15,8 ± 3,6 Ab	10,7 ± 3,0 Bc
Clorexidina	16,4 ± 3,3 Ab	14,0 ± 3,6 Bb
EDC	20,1 ± 2,2 Aa	18,8 ± 2,4 Aa

*Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística nas linhas e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística nas colunas ao teste de Tukey ($P < 0,05$).

A análise de variância com parcela subdividida evidenciou que os valores de resistência de união foram influenciados pelo fator radioterapia e subparcela terço radicular ($P < 0,001$), no entanto não houve diferença para a interação do fator radioterapia e subparcela terço radicular ($P = 0,085$) (Tabela XII).

Tabela XII. Resultados da análise de variância para a comparação entre radioterapia e terço radicular em relação aos dados de resistência de união ao teste de *push-out*.

Fonte de Variação	dF	Soma dos quadrados	Média dos quadrados	F	P
Radioterapia	1	1619,3	1619,3	38,7	<0,001
Terço radicular	2	1943,4	921,7	120,5	<0,001
Radioterapia/Terço radicular	2	38,1	19,0	2,5	0,085
Resíduos	236	1805,2	7,6		
Total	359	10236,9	28,5		

Em relação aos terços radiculares, independente do protocolo de irradiação, o terço cervical apresentou maior resistência de união quando comparado ao terço médio ($P < 0,001$), sendo os valores de resistência de união do terço médio superiores ao terço apical ($P < 0,001$) (Tabela XIII).

Tabela XIII. Média e desvio padrão da resistência de união ao teste de *push-out* para os terços radiculares.

Terço radicular	Média ± Desvio padrão
Cervical	18,6 ± 2,2 A
Médio	16,3 ± 2,6 B
Apical	13,0 ± 2,5 C

*Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ao teste de Tukey ($P < 0,05$).

Análise do padrão de falha

Os dados de padrão de falha para dentes não irradiados e irradiados são apresentados na Tabela XIV. O teste qui-quadrado evidenciou que os dentes irradiados apresentaram maior percentual de falhas coesivas em dentina quando comparado aos dentes não irradiados ($P=0,024$). Em relação ao tratamento de superfície, o grupo tratado com EDC apresentou maior percentual de falhas adesivas mistas, já os tratamentos com soro fisiológico e clorexidina apresentaram maior percentual de falhas adesiva à dentina e coesiva da dentina quando comparado ao grupo tratado com EDC ($P=0,003$). Na avaliação após 10 meses os dentes apresentaram maior percentual de falhas coesivas em dentina e adesivas ao pino quando comparada a avaliação inicial ($P=0,015$).

Tabela XIV. Tipo de falha após teste de *push-out*, no momento inicial e após 10 meses, para dentes irradiados e não irradiados com diferentes tratamentos da dentina (valores percentuais).

		Inicial			10 meses		
	Tipo de falha	Soro	Clorexidina	EDC	Soro	Clorexidina	EDC
Não Irrradiado	Ad	53,3	46,7	43,3	33,3	30,0	53,3
	Ap	6,7	6,7	3,3	13,3	16,7	6,7
	Am	40,0	46,7	53,3	43,3	46,7	30,0
	Cd	0,0	0,0	0,0	10,0	6,7	10,0
	Cp	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Irrradiado	Ad	36,7	33,3	63,3	43,3	36,7	20,0
	Ap	3,3	3,3	0,0	0,0	13,3	16,7
	Am	40,0	43,3	36,7	26,7	40,0	63,3
	Cd	20,0	20,0	0,0	30,0	10,0	0,0
	Cp	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

*Tipos de falha: Ad= Adesiva à dentina; Ap = Adesiva ao pino de fibra de vidro; Am=Adesiva mista; Cd=Coesiva da dentina; Cp=Coesiva do pino.

Avaliação qualitativa da interface adesiva em MEV

Considerando a análise a partir das eletromicrografias (MEV) dos *slices*, observou-se que a adaptação para os dentes não irradiados e irradiados submetidos aos diferentes tratamentos apresentaram padrão uniforme em todos os terços radiculares. Assim, os dados foram analisados levando-se em consideração os

fatores radioterapia, tratamento da dentina e longevidade, conforme demonstrado na Tabela XV e na Figura 16.

Tabela XV. Distribuição percentual dos tipos de adaptação do material restaurador à dentina radicular, no momento inicial e após 10 meses, para dentes irradiados e não irradiados submetidos à diferentes tratamentos da dentina.

Adaptação		Inicial			10 meses		
		Soro	Clorexidina	EDC	Soro	Clorexidina	EDC
Não Irrradiado	B	33,3	40,0	66,7	26,7	40,0	40,0
	Rz	36,7	40,0	15,0	8,3	15,0	10,0
	Ru	30,0	20,0	18,3	35,0	36,7	41,7
	SA	0,0	0,0	0,0	30,0	8,3	8,3
Irrradiado	B	46,7	46,7	41,7	26,7	26,7	53,3
	Rz	30,0	35,0	41,7	10,0	8,3	6,7
	Ru	20,0	18,3	16,7	56,7	63,3	40,0
	SA	3,3	0,0	0,0	6,7	1,7	0,0

*Critério de adaptação do cimento à dentina radicular B= boa; Rz= razoável; Ru= ruim; SA= sem adaptação.

O teste não paramétrico de Mann-Whitney não evidenciou diferença na adaptação para dentes irradiados e não irradiados ($P=0,024$). Em relação ao tratamento de superfície o grupo tratado com EDC apresentou melhor adaptação comparada ao grupo tratado com soro fisiológico ($P<0,001$), já o grupo tratado com clorexidina apresentou valores de adaptação ora similar ao grupo tratado com EDC ($P=0,087$) ora similar ao grupo tratado com soro fisiológico ($P=0,104$). Ainda, na avaliação após 10 meses os dentes apresentaram maior desadaptação quando comparado à avaliação inicial ($P<0,001$).

Figura 16. Distribuição percentual do material restaurador à dentina radicular, no momento inicial e após 10 meses, para dentes irradiados e não irradiados submetidos à diferentes tratamentos da dentina. EDC: Carbodiimida - EDC; CLX: Clorexidina; S: Soro fisiológico.

A análise das imagens em MEV permite observar que não houve diferença na interface adesiva quando avaliada no momento inicial e após 10 meses, por outro lado, observa-se diferença entre as soluções utilizadas para tratamento da dentina em dentes não irradiados e irradiados. Em relação aos tratamentos analisados, para o grupo em que foi utilizado soro fisiológico, foi observada a presença de *gaps* na interface adesiva tanto nos dentes irradiados quanto nos não irradiados, sendo que nos dentes irradiados foi observada constrição dos túbulos dentinários (Figura 17). Para os dentes tratados com clorexidina pode-se observar regiões de *gaps* na interface adesiva e regiões de justaposição entre cimento e dentina, sendo que a presença de *gaps* é maior nos dentes irradiados (Figura 18). Já para os dentes tratados com EDC observa-se justaposição da interface adesiva formada entre cimento resinoso e dentina radicular, tanto em dentes irradiados como não irradiados, bem como ausência de *gaps* (Figura 19). Destaca-se nas imagens de MEV a presença de fraturas (Figura 20), microfraturas dentinárias e *gaps* na interface dentina/cimento resinoso (Figura 21) em dentes irradiados.

Figura 17. Fotomicrografias da interface adesiva de dentes não irradiados e irradiados tratados com soro fisiológico: (A) Interface adesiva de dente não irradiado e tratado com soro fisiológico evidenciando *gaps* na interface adesiva (asterisco amarelo) e túbulos dentinários amplos (setas amarelas) (1000x); (B) Interface adesiva de dente não irradiado e tratado com soro fisiológico evidenciando *gaps* na interface adesiva (asterisco amarelo) e túbulos dentinários amplos (setas amarelas) (2000x); (C) Interface adesiva de dente não irradiado e tratado com soro fisiológico evidenciando *gaps* na interface adesiva (asterisco amarelo) e túbulo dentinário amplo (seta amarela) (4000x); (D) Interface adesiva de dente irradiado e tratado com soro fisiológico evidenciando *gaps* na interface adesiva (asterisco amarelo) e constrição dos túbulos dentinários (setas amarelas) (1000x); (E) Interface adesiva de dente irradiado e tratado com soro fisiológico evidenciando *gaps* na interface adesiva (asterisco amarelo) e constrição dos túbulos dentinários (setas amarelas) (2000x); (F) Interface adesiva de dente irradiado e tratado com soro fisiológico evidenciando *gaps* na interface adesiva (asterisco amarelo) e constrição do túbulo dentinário (seta amarela) (4000x); Legenda - *p*: pino de fibra de vidro; *c*: cimento resinoso; *d*: dentina radicular.

Figura 18. Fotomicrografias da interface adesiva de dentes não irradiados e irradiados tratados com clorexidina: (A) Interface adesiva de dente não irradiado e tratado com clorexidina evidenciando regiões de justaposição (asteriscos amarelos) e presença de *gaps* (seta amarela) entre cimento e dentina (1000x); (B) Interface adesiva de dente não irradiado e tratado com clorexidina evidenciando regiões de justaposição (asteriscos amarelos) e presença de *gaps* (setas amarelas) entre cimento e dentina (2000x); (C) Interface adesiva de dente não irradiado e tratado com clorexidina evidenciando regiões de justaposição (asteriscos amarelos) e presença de *gaps* (setas amarelas) entre cimento e dentina (4000x); (D) Interface adesiva de dente irradiado e tratado com clorexidina evidenciando região de justaposição (asterisco amarelo) e presença de *gaps* (setas amarelas) entre cimento e dentina (1000x); (E) Interface adesiva de dente irradiado e tratado com clorexidina evidenciando região de justaposição (asterisco amarelo) e presença de *gaps* (setas amarelas) entre cimento e dentina (2000x); (F) Interface adesiva de dente irradiado e tratado com clorexidina evidenciando região de justaposição (asterisco amarelo) e presença de *gaps* (setas amarelas) entre cimento e dentina (4000x); Legenda - *p*: pino de fibra de vidro; *c*: cimento resinoso; *d*: dentina radicular.

Figura 19. Fotomicrografias da interface adesiva de dentes não irradiados e irradiados tratados com EDC: (A) Interface adesiva de dente não irradiado e tratado com EDC evidenciando regiões de justaposição (asteriscos amarelos) entre cimento e dentina (1000x); (B) Interface adesiva de dente não irradiado e tratado com EDC evidenciando regiões de justaposição (asteriscos amarelos) entre cimento e dentina (2000x); (C) Interface adesiva de dente não irradiado e tratado com EDC evidenciando regiões de justaposição (asteriscos amarelos) entre cimento e dentina (4000x); (D) Interface adesiva de dente irradiado e tratado com EDC evidenciando regiões de justaposição (asteriscos amarelos) entre cimento e dentina (1000x); (E) Interface adesiva de dente irradiado e tratado com EDC evidenciando regiões de justaposição (asteriscos amarelos) entre cimento e dentina (2000x); (F) Interface adesiva de dente irradiado e tratado com EDC evidenciando regiões de justaposição (asteriscos amarelos) entre cimento e dentina (4000x); Legenda - *p*: pino de fibra de vidro; *c*: cimento resinoso; *d*: dentina radicular.

Figura 20. Fotomicrografias da interface adesiva de dentes não irradiados e irradiados (100x): (A) Interface adesiva entre pino de fibra de vidro, cimento resinoso e dentina radicular de dente não irradiado; (B) Interface adesiva entre pino de fibra de vidro, cimento resinoso e dentina radicular de dente não irradiado; (C) Interface adesiva entre pino de fibra de vidro, cimento resinoso e dentina radicular de dente irradiado evidenciando presença de fraturas em dentina (setas amarelas); (D) Interface adesiva entre pino de fibra de vidro, cimento resinoso e dentina radicular de dente irradiado evidenciando presença de fraturas em dentina (setas amarelas). Legenda - *p*: pino de fibra de vidro; *c*: cimento resinoso; *d*: dentina radicular.

Figura 21. Fotomicrografias da interface adesiva de dentes não irradiados e irradiados: (A) Interface adesiva entre pino de fibra de vidro, cimento resinoso e dentina radicular de dente não irradiado evidenciando justaposição entre cimento resinoso e dentina radicular (asteriscos amarelos) (1000x); (B) Interface adesiva entre pino de fibra de vidro, cimento resinoso e dentina radicular de dente não irradiado evidenciando justaposição entre cimento resinoso e dentina radicular (asteriscos amarelos) (2000x); (C) Interface adesiva entre pino de fibra de vidro, cimento resinoso e dentina radicular de dente irradiado evidenciando presença de microfraturas na dentina (setas amarelas) e *gaps* entre cimento resinoso e dentina radicular (asteriscos amarelos) (1000x); (D) Interface adesiva entre pino de fibra de vidro, cimento resinoso e dentina radicular de dente irradiado evidenciando presença de microfraturas na dentina (setas amarelas) e *gaps* entre cimento resinoso e dentina radicular (asteriscos amarelos) (2000x); Legenda - *p*: pino de fibra de vidro; *c*: cimento resinoso; *d*: dentina radicular.

*D*iscussão

Os tratamentos radioterápicos têm aumentado a sobrevida dos pacientes portadores de tumores, sendo o tratamento de escolha para pacientes com câncer de cabeça e pescoço (CHAACHOUAY et al., 2011; KYRGIAS et al., 2016; MAZZOLA et al., 2018), de forma que, quando diagnosticado precocemente, o câncer de boca apresenta taxa de sobrevida entre 80% e 90% (OCF, 2018). Apesar de ser direcionada à massa tumoral, a radioterapia tem caráter semi-seletivo e nem sempre os tecidos circunvizinhos são preservados (THIAGARAJAN; IYER, 2014; KHAN et al., 2016; ROŚ-MAZURCZYK et al., 2017) ocasionando efeitos colaterais na cavidade bucal, entre eles a cárie de radiação (EPSTEIN; THARIAT; BENSADOUN, 2012; LIESHOUT; BOTS, 2014; GUPTA et al., 2015; DOBROŚ et al., 2016; QING et al., 2016), que pode causar severa destruição coronária levando esses pacientes à buscarem tratamento odontológico para restauração funcional e estética. Entretanto, estudos recentes têm demonstrado que nesses casos a resistência de união nos procedimentos restauradores adesivos é comprometida (NAVES et al., 2012; YAMIN et al., 2018) e que falhas adesivas ocorrem com frequência (AGGARWAL, 2009; MARTINS et al., 2016; PAIOLA et al., 2018; YAMIN et al., 2018), deixando evidente a importância do estabelecimento de protocolos clínicos que proporcionem tratamentos odontológicos satisfatórios, melhorando assim a qualidade de vida desses pacientes.

Em relação ao protocolo radioterápico, a dose total utilizada no presente estudo foi de 60 Gy, como preconizado clinicamente no tratamento de tumores de cabeça e pescoço em que a dose total pode variar de 50 a 70 Gy (FLETCHER, 1988). Ainda, a dose foi administrada por meio do regime de fracionamento desenvolvido por FLETCHER (1988), que consiste na distribuição das doses terapêuticas, com aplicações diárias de radiação, em 5 ciclos semanais, finalizando

a terapia radioterápica ao final de 6 semanas. Este tem sido o protocolo mais utilizado e aceito nas últimas décadas para o tratamento do câncer de cabeça e pescoço, por maximizar o volume da dose de radiação na massa tumoral, minimizar a dose em tecidos saudáveis, além de diminuir os efeitos colaterais da radiação ao permitir o reparo dos tecidos normais atingidos (FERGUSON; STEVENS, 2007; JOINER; VAN DER KOGEL, 2009), e por este motivo tem sido empregado em estudos *in vitro* que buscam entender melhor os efeitos da radioterapia nos tecidos dentais (AGGARWAL, 2009; SOARES et al., 2010; SOARES; NEIVA; SOARES et al., 2011; NAVES et al., 2012; DE SIQUEIRA MELLARA et al., 2014; GONÇALVES et al., 2014; MARTINS et al., 2016; CAMPI et al., 2018; PAIOLA et al., 2018; VELO et al., 2018; YAMIN et al., 2018).

Com o objetivo de simular as condições clínicas, no presente estudo os dentes foram armazenados em saliva artificial, composta por fosfato, diácido de potássio, fosfato dibásico de potássio, cloreto de potássio, cloreto de sódio, cloreto de magnésio, cloreto de cálcio, fluoreto de sódio, sorbitol 70%, aromatizante, conservantes (nipagin/nipasol), espessante e água. Apesar desse composto não reproduzir exatamente as características da saliva natural, principalmente nos casos de pacientes irradiados em que há alterações no fluxo e composição salivar, ainda é a opção que mais se assemelha às condições clínicas da saliva natural (AMAECHI; HIGHAM, 2001). Entretanto, o uso da saliva artificial durante a irradiação poderia dificultar a distribuição homogênea da dose, interferindo na radiação direta por unidade de área devido à viscosidade e alta concentração de íons, sendo, por este motivo, substituída por água destilada, que também simula os tecidos moles circundantes tanto física como quimicamente pela formação de radicais livres (SOARES; NEIVA; SOARES, 2011; DE SIQUEIRA MELLARA et al., 2014;

GONÇALVES et al., 2014; ARID, 2015; SANTIN et al., 2015; MARTINS et al., 2016; PAIOLA et al., 2018; YAMIN et al., 2018).

Em relação à seleção da amostra foram selecionados dentes com canais que apresentassem relação de dimensão vestibulolingual e mesiodistal menor ou igual 1,5 (WU et al., 2000; PEREIRA et al., 2017) de forma que a secção transversal fosse o mais circular possível, se assemelhando à secção transversal dos pinos de fibra de vidro e permitindo melhor adaptação da interface adesiva, ao contrario dos dentes com achatamento que podem levar à áreas com maior linha de cimentação e gerar confusões com a variável de interesse sob investigação (VERSIANI; PÉCORA; SOUSA-NETO, 2013; PEREIRA et al., 2017). Além disso, a escolha dos pinos de fibra de vidro como retentores intrarradiculares para restauração dos dentes submetidos à radioterapia se deve principalmente ao fato de possuírem módulo de elasticidade semelhante ao da dentina, o que permite a redução da transmissão de forças extrínsecas às paredes dentinárias, e consequentemente minimiza o risco de fraturas radiculares verticais (AGGARWAL, 2009; KUMAR; RAO 2015; PRADO et al., 2016; WANG; CHANG; LIN, 2016; YAMIN et al., 2018), uma vez que as mudanças estruturais da dentina radicular causadas pelo tratamento radioterápico tornam o dente mais susceptível à fratura (DE SIQUEIRA MELLARA et al., 2014; GONÇALVEZ et al., 2014; BONILLA, 2016; QING et al., 2016; YAMIN et al., 2018).

No presente estudo foi realizada a análise em FTIR que permitiu identificar alterações na composição química da dentina e na estrutura do colágeno por meio da avaliação das bandas de carbonato, amida I, amida III e prolina e hidroxiprolina. A fase inorgânica da dentina consiste em carbonato e fosfato, que formam a hidroxiapatita, enquanto a fase orgânica consiste em 90% em fibras de colágeno do tipo I e 10% de proteínas não colágenas da matriz (MARSHALL et al., 1997), sendo

essas duas fases fortemente ligadas pelas moléculas de água (MARSHALL et al., 1997; PASHLEY; CARVALHO, 1997; HALLER, 2000; EMBERY et al., 2001). Sendo assim, a área das bandas de carbonato (850 cm^{-1}) foram utilizadas para avaliar a composição inorgânica na dentina. Já a banda de amida I (1630 cm^{-1}) é uma das principais bandas de absorção do grupo de peptídeos do colágeno, e representa os estiramentos entre C=O, com pouca contribuição de deformação de N-H (CHOI; CHO, 2009), e dessa forma, a diminuição da área da banda de amida I foi relacionada ao dano à estrutura primária das fibras de colágeno (XU; WANG, 2012). Ainda, para as fibrilas de colágeno tipo I, a integridade da sua estrutura secundária pôde ser verificada quando o valor da razão entre amida III e prolina e hidroxiprolina (1450 cm^{-1}) foi maior ou igual a um (BOTTA et al., 2012), uma vez que a amida III (1240 cm^{-1}) está relacionada ao estiramento C-N e N-H (BOTTA et al., 2012) e que menor quantidade ou falta de hidroxiprolina faz com que o colágeno perca a conformação de tripla hélice (TONHI; PLEPIS, 2002).

Para a avaliação da resistência de união foi utilizado o teste de *push-out*, que é considerado o método mais adequado para avaliação da resistência de união à dentina radicular por permitir que a força seja aplicada paralelamente à interface adesiva, simulando as condições clínicas (FISHER; BERZINS; BAHCALL, 2007; TEIXEIRA et al., 2009; COSTA et al., 2010; SHOKOUHINEJAD et al., 2011; CARNEIRO et al., 2012; PEREIRA et al., 2017), além de que permitir a determinação da resistência de união nos diferentes terços do canal radicular (CASTELLAN et al., 2010; MANICARDI et al., 2011). Para isso, bases e hastes metálicas com ponta ativa e orifícios de diâmetros compatíveis para cada terço foram utilizadas no intuito de favorecer a aplicação da força e distribuição das tensões de cisalhamento o mais próximo possível da interface adesiva formada entre cimento resinoso e dentina

radicular (ZANATTA et al., 2015). De forma complementar, a avaliação da adaptação do cimento resinoso à dentina radicular foi realizada por meio de imagens obtidas em MEV, permitindo a aquisição de imagens de alta resolução em diferentes aumentos (MORADI; GHODDUSI; FORGHANI, 2009; HARAGUSHIKU et al., 2012; SOUZA et al., 2012b; VIAPIANA et al., 2014), que possibilitaram a mensuração dos *gaps* nos quatro quadrantes da interface adesiva seguido da classificação e análise estatística por meio de *scores* (BALGUERIE et al., 2011; BRITO-JÚNIOR et al., 2015; ARAÚJO et al., 2016; YAMIN et al., 2018).

Para permitir a avaliação da longevidade da resistência de união foi realizado o envelhecimento acelerado por meio de exposição direta dos *slices* à água destilada contendo 0,4% de azida de sódio (SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016), uma vez que a secção das raízes antes do armazenamento em água leva à rápida difusão através da interface adesiva, resultando em sua rápida degradação (HASHIMOTO et al., 2002; SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016). Apesar do armazenamento dos *slices* em água por 10 meses e posterior realização do teste de *push-out* não ser capaz de reproduzir as condições de envelhecimento clínico e as cargas funcionais, esta metodologia permite avaliar o efeito de agentes inibidores de metaloproteínas na estabilidade da interface adesiva (ZHOU et al., 2013; SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016), sendo utilizada em estudos que buscam determinar a longevidade da resistência de união dos pinos de fibra de vidro à dentina radicular (LEITUNE; COLLARES; WERNER SAMUEL, 2010; ZHOU et al., 2013; SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016).

Em relação aos resultados da análise das alterações químicas e da estrutura do colágeno a radioterapia causou dano direto à estrutura secundária do colágeno,

ou seja, nas ligações entre as cadeias peptídicas (GELSE; POSCHL; AIGNER, 2003; CAMPI et al., 2018), visto que causou a perda da conformação de tripla hélice, não ocasionando alterações na estrutura primária do colágeno (CAMPI et al., 2018) ou em sua porção inorgânica. Os raios X da radioterapia atuam na presença de água por meio da formação de radicais livres e peróxido de hidrogênio (COLE; SILVER, 1963; FISHER et al., 1971), capazes de agir como forte oxidante, provocando a desnaturação e fragmentação da rede de fibras colágenas da dentina (PIOCH; GOLFELS; STAEHLE, 1992; AGGARWAL, 2009; KOCHUEVA; IGNATIEVA; ZAKHARKINA, 2012; GONÇALVES et al., 2014; QING et al., 2016), além de ativar metaloproteinases (STRUP-PERROT et al., 2006; MCGUIRE et al., 2014; BONILLA, 2016).

A degradação da rede de fibras de colágeno, observada na análise em FTIR, está provavelmente relacionada aos menores valores de resistência de união do cimento resinoso à dentina radicular observados nos dentes irradiados (AGGARWAL, 2009; YAMIN et al., 2018), bem como na maior desadaptação da interface adesiva observada em MEV (Figuras 17 e 18) (GONÇALVES et al., 2014; LIESHOUT; BOTS, 2014), uma vez que o mecanismo de união à dentina do cimento resinoso RelyX U200 é promovido por monômeros ácidos que ao interagir com a parte orgânica do cimento resinoso e com a dentina radicular desmineralizam e penetram no substrato dental criando retenção micromecânica e ligação química à hidroxiapatita, não dependendo da formação de camada híbrida ou da presença de *tags* (LIN et al., 2010; PAVAN et al., 2010; VALENTINO et al., 2010; FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011), mas sim de um meio de ionização para que a reação química ocorra (MUSHASHE et al., 2016), que ao ser alterado pela irradiação pode

ter levado ao menor número de ligações químicas entre o cimento e dentina radicular (YAMIN et al., 2018).

A alteração entre as cadeiras peptídicas do colágeno, modificando sua estrutura secundária, somada ao stress causado pela instrumentação endodôntica com instrumento recíprocante e preparo do espaço para pino (AMADE et al., 2013; LI et al., 2015; VERSIANI; SOUZA; DE-DEUS, 2015; YAMIN et al., 2018) podem também justificar a ocorrência de fraturas e microfraturas na dentina radicular em dentes irradiados, verificadas na análise em MEV (Figuras 20 e 21), bem como a presença de falhas coesivas na dentina após o teste de *push-out* (NAVES et al., 2012; DE SIQUEIRA MELLARA et al., 2014; GONÇALVEZ et al., 2014; BONILLA, 2016; QING et al., 2016).

Além disso, os resultados do teste de *push-out* evidenciaram que após 10 meses houve diminuição significativa nos valores de resistência de união e a análise dos *gaps* em MEV evidenciou maior desadaptação da interface adesiva, para os dentes não irradiados e irradiados tratados com soro fisiológico e clorexidina. A perda da resistência de união à longo prazo tem sido descrita como a falha mais comum das restaurações (FERRARI et al., 2000; NAUMANN et al., 2012; SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016), uma vez que a interface adesiva é exposta a mecanismos de degradação do colágeno por enzimas colagenolíticas encontradas na dentina, como as metaloproteinases da matriz, que uma vez ativadas pelos monômeros ácidos podem, ao longo do tempo, degradar as fibrilas colágenas entre as quais o cimento resinoso infiltra para formar a interface adesiva (TAY et al., 2006; BITTER; KIELBASSA, 2007; SANTOS et al., 2009; SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016).

Por outro lado, o tratamento da dentina com EDC previamente à cimentação dos pinos de fibra de vidro resultou na manutenção dos valores de resistência de união após 10 meses, tanto em dentes não irradiados como nos irradiados, além de resultar em melhor adaptação da interface adesiva (Figura 19). As moléculas de colágeno se unem por meio de ligações cruzadas (*cross-links*), formando as fibrilas de colágeno (SCHEFFEL et al., 2015b), assim, a presença de *cross-links* endógenos entre as moléculas e fibras, proporciona viscoelasticidade, estabilidade, e resistência a estas estruturas fibrilares (YAMAUCHI, 2000; BEDRAN-RUSSO et al., 2010; SCHEFFEL et al., 2015b). Neste sentido, a capacidade do EDC de estimular a formação de ligações cruzadas, provavelmente aumentou a resistência à degradação do colágeno, que somado à capacidade de inibição de metaloproteinases (TEZVERGIL-MUTLUAY et al., 2012; SCHEFFEL et al., 2014) resultou em maiores valores de resistência de união dos dentes irradiados já na avaliação inicial, além de melhorar a estabilidade da interface adesiva à longo prazo (SCHEFFEL et al., 2015b; SINGH et al., 2016). Este efeito inibitório também é evidenciado pela análise das falhas, uma vez que a quantidade de falhas adesivas entre a dentina e o cimento nos grupos tratados com EDC foi menor do que nos grupos tratados com soro fisiológico e clorexidina. Esses resultados corroboram com estudo de SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR (2016), em que o EDC diminuiu o efeito danoso do envelhecimento na resistência de união de pino de fibra de vidro à dentina radicular quando utilizado cimento resinoso autoadesivo.

Além disso, a análise em FTIR permitiu verificar que após o tratamento da dentina com EDC por 1 minuto a integridade da tripla hélice do colágeno do grupo irradiado foi restaurada, o que se manteve após 3 e 5 minutos de tratamento. O EDC é capaz de agregar aminoácidos em peptídeos, sendo um *cross-linker* não

específico de capacidade única para ativar o grupo carboxila dos ácidos glutâmico e aspártico presentes nas cadeias proteicas (TIMKOVICH, 1977; ZEEMAN et al., 1999; SCHEFFEL et al., 2015a), resultando em *cross-links* sem grupos reativos residuais (OLDE DAMINK et al., 1996a; OLDE DAMINK et al., 1996b; SCHEFFEL et al., 2015b), o que provavelmente permitiu a rápida reestruturação da estrutura secundária do colágeno danificado pela radioterapia; já o aumento nos valores de amida I tanto no grupo irradiado como no grupo não irradiado, está provavelmente relacionado à sua capacidade de inativar os sítios catalíticos de metaloproteinases (LIU et al., 2011; TEZVERGIL-MUTLUAY et al., 2012; MAZZONI et al., 2014; SCHEFFEL et al., 2014; SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016).

O tratamento da dentina com clorexidina resultou em valores intermediários de adaptação da interface adesiva (Figura 18) e de resistência de união após 10 meses quando comparado ao soro fisiológico, que apresentou os menores valores de resistência de união, e ao EDC, que apresentou os maiores valores; em função da atuação da clorexidina como inibidor inespecífico de metaloproteinases, retardando a degradação da interface adesiva (HEBLING et al., 2005; CARRILHO et al., 2007; BRESCHI et al., 2010; CECCHIN et al., 2011; LIU et al., 2011; SHAFIEI; DOOZANDEH; ALAVI, 2011; SCAFFA et al., 2012; SOUZA et al., 2012a; CECCHIN et al., 2014; SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016; DURSKI et al., 2018). Entretanto, o mecanismo de inibição das metaloproteinases pela clorexidina ocorre por meio de ligação eletrostática reversível ao colágeno, que somado à sua solubilidade em água podem levar à sua lenta difusão a partir da matriz de colágeno, resultando na perda da ação inibitória das metaloproteinases dentro de alguns meses (RICCI et al., 2010; LIU et al., 2011; SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016), diferentemente do mecanismo de

inibição do EDC, que impede que os polipeptídios de colágeno sejam desenrolados pelas metaloproteinases, e inativam o local catalítico das proteases criando nova ligação peptídica, sendo dessa forma mais duradouro (SCHEFFEL et al., 2014; SHAFIEI; YOUSEFIPOUR; MOHAMMADI-BASSIR, 2016).

Entretanto, em dentes irradiados, o tratamento da dentina com clorexidina previamente à cimentação dos pinos de fibra de vidro não foi capaz de manter os valores de resistência de união após 10 meses. Ainda, no presente estudo, o tratamento da dentina com essa solução não foi capaz de devolver a integridade da tripla hélice de colágeno nos dentes irradiados, uma vez que mesmo após 5 minutos de tratamento os dentes irradiados continuaram com a razão amida III / prolina e hidroxiprolina semelhante ao momento inicial (sem tratamento), mostrando que o uso dessa solução após o dano à estrutura secundária do colágeno já ter sido causado pela radioterapia não foi revertido. Já os valores de amida I aumentaram após 3 e 5 minutos de imersão, tanto no grupo irradiado como no grupo não irradiado, o que provavelmente está relacionado ao seu mecanismo de inibição de metaloproteinases (HEBLING et al., 2005), auxiliando a manutenção da estrutura primária do colágeno. Não existem estudos na literatura avaliando o efeito da clorexidina na adesão à dentina irradiada, entretanto em estudo de SOARES; NEIVA; SOARES (2011) foi realizada a simulação de bochechos com clorexidina 0,12%, o qual preveniu parcialmente os danos às propriedades mecânicas da dentina coronária irradiada com cobalto 60.

Maiores valores de resistência de união foram observados no terço cervical, quando comparado ao terço médio, que por sua vez foi maior que no apical, independente da radioterapia ou do tratamento da dentina. Embora a fotopolimerização tenha sido realizada com potência de 1100mW/cm², como

recomendado para a cimentação dos pinos de fibra de vidro (BAHARI et al., 2014), a transmissão da luz ao longo de seu comprimento ainda é limitada (FARIA E SILVA et al., 2007; RADOVIC et al., 2009; BAHARI et al., 2014), o que pode dificultar a polimerização nos terços médio e apical da raiz (FARIA E SILVA et al., 2007; KIM et al., 2009), resultando em menores valores de resistência de união (LE BELL et al., 2004; RADOVIC et al., 2008; WANG et al., 2008; RADOVIC et al., 2009; ZAITTER et al., 2011).

Tendo em vista as alterações químicas e da estrutura do colágeno, e a redução da resistência de união provocada pela radioterapia para tratamento do câncer de cabeça e pescoço, bem como o aumento da sobrevida e cura desses pacientes, a restauração dos elementos dentais torna-se importante para melhorar a qualidade de vida dos mesmos. Nesse sentido, o tratamento da dentina irradiada com EDC apresentou-se como alternativa promissora pós radioterapia de cabeça e pescoço, uma vez que foi capaz de devolver a integridade do colágeno, auxiliando na longevidade da resistência de união do cimento resinoso à dentina radicular. Entretanto, é necessário que estudos clínicos sejam realizados para verificar o comportamento destes tratamentos sob influência do meio bucal alterado pela radioterapia, visando estabelecer protocolos para prevenir ou atenuar seus efeitos deletérios, permitindo a restauração da estética e da função desses pacientes.

Conclusões

Baseado na metodologia utilizada e nos resultados obtidos neste estudo, é possível concluir que:

- A radioterapia resultou em menores valores de resistência de união e maior quantidade de falhas coesivas em dentina, além de causar danos à estrutura secundária do colágeno;
- Após 10 meses houve redução dos valores de resistência de união em dentes irradiados e não irradiados tratados com soro fisiológico e clorexidina;
- O tratamento da dentina com clorexidina não reverteu os danos gerados pela radioterapia em relação à estrutura secundária do colágeno e à redução dos valores de resistência de união, entretanto, aumentou os valores de resistência de união após 10 meses quando comparado ao soro fisiológico;
- O tratamento da dentina com EDC reverteu os danos gerados pela radioterapia à estrutura secundária do colágeno, aumentando os valores de resistência de união nos dentes irradiados, e mantendo a longevidade da interface adesiva, apresentando-se como melhor alternativa para tratamento da dentina previamente à cimentação de pinos de fibra de vidro em dentes irradiados e não irradiados.

Referências

AÇIL, Y.; SPRINGER, I. N.; NIEHOFF, P.; GASSLING, V.; WARNKE, P. H.; AÇMAZ, S.; SÖNMEZ, T. T.; KIMMIG, B.; LEFTERIS, V.; WILTFANG, J. Proof of direct radiogenic destruction of collagen in vitro. **Strahlenther Onkol**, v. 183, n. 7, p. 374-9, 2007.

AGGARWAL, V. An in vitro evaluation of effect of ionizing radiotherapy on push-out strength of fiber posts under cyclic loading. **J Endod**, v. 35, n. 5, p. 695-8, 2009.

AL-AMMAR, A.; DRUMMOND, J. L.; BEDRAN-RUSSO, A. K. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 91, n. 1, p. 419-24, 2009.

AL-NAWAS, B.; GRÖTZ, K. A.; ROSE, E.; DUSCHNER, H.; KANN, P.; WAGNER, W. Using ultrasound transmission velocity to analyse the mechanical properties of teeth after in vitro, in situ, and in vivo irradiation. **Clin Oral Investig**, v. 4, n. 3, p. 168-172, 2000.

ALANDIA-ROMÁN, C. C.; VINCENTI, S. A.; SILAMI, F. D.; SILVEIRA, R. E.; PINTO, G. C.; PIRES-DE-SOUZA, F. C. The effect of proanthocyanidins and chlorhexidine on the bond strength of glass fiber posts to root dentin. **Gen Dent**, v. 65, n. 2, p. 23-27, 2017.

AMADE, E. S.; NOVAIS, V. R.; ROSCOE, M. G.; AZEVEDO, F. M.; BICALHO, A. A.; SOARES, C. J. Root dentin strain and temperature rise during endodontic treatment and post rehabilitation. **Braz Dent J**, v. 24, n. 6, p. 591-598, 2013.

AMAECHI, B. T.; HIGHAM, S. M. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. **J Dent**, v. 29, n. 5, p. 371-376, 2001.

ARAÚJO, C. C.; BRITO-JÚNIOR, M.; FARIA-E-SILVA, A. L.; PEREIRA, R. D.; SILVA-SOUSA, Y. T.; CRUZ-FILHO, A. M.; SOUSA-NETO, M. D. Root filling bond strength using reciprocating file-matched single-cones with different sealers. **Braz Oral Res**, v. 30, n. 1, 2016.

ARAÚJO, V. L. C. **Estudo do efeito da quitosana utilizada no preparo biomecânico sobre as paredes dos canais radiculares mediante avaliação por espectroscopia e microscopia confocal a laser**. Ribeirão Preto: Tese de Doutorado [Universidade de São Paulo – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto]. 2017.

ARID, J. **Efeito da Radioterapia na Adesão e Interface ao Substrato de Dentes Permanentes**. Ribeirão Preto: Dissertação de Mestrado [Universidade de São Paulo – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto]. 2015.

BACHMANN, L.; DIEBOLDER, R.; HIBST, R.; ZECELL, D. M. Changes in chemical composition and collagen structure of dentine tissue after erbium laser irradiation. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v. 61, n. 11-12, p. 2634-9, 2005.

BAHARI, M.; SAVADI OSKOEI, S.; KIMYAI, S.; MOHAMMADI, N.; SAATI KHOSROSHAHI, E. Effect of light intensity on the degree of conversion of dual-cured resin cement at different depths with the use of translucent fiber posts. **J Dent (Tehran)**, v. 11, n. 3, p. 248-255, 2014.

BALGUERIE, E.; VANDERSLUIS, L.; VALLAEYS, K.; GURGEL-GEORGELIN, M.; DIEMER, F. Sealer penetration and adaptation in the dentinal tubules: a scanning electron microscopic study. **J Endod**, v. 37, n. 11, p. 1576-1579, 2011.

BEDRAN-RUSSO, A. K.; PASHLEY, D. H.; AGEE, K.; DRUMMOND, J. L., MIESCKE, K. J. Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 86, n. 2, p. 330-4, 2008.

BEDRAN-RUSSO, A. K.; VIDAL, C. M.; DOS SANTOS, P. H.; CASTELLAN, C. S. Long-term effect of carbodiimide on dentin matrix and resin-dentin bonds. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 94, n. 1, p. 250-5, 2010.

BEDRAN-RUSSO, A. K.; YOO, K. J.; EMA, K. C.; PASHLEY, D. H. Mechanical properties of tannic-acid-treated dentin matrix. **J Dent Res**, v. 88, n. 9, p. 807-11, 2009.

BEECH, N.; ROBINSON, S.; PORCEDDU, S.; BATSTONE, M. Dental management of patients irradiated for head and neck cancer. **Aust Dent J**, v. 59, n. 1, p. 20-8, 2014.

BESSELL, A.; GLENNY, A. M.; FURNESS, S.; CLARKSON, J. E.; OLIVER, R.; CONWAY, D. I.; MACLUSKEY, M.; PAVITT, S.; SLOAN, P.; WORTHINGTON, H. V. Interventions for the treatment of oral and oropharyngeal cancers: surgical treatment. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 7, n. 9, p. CD006205, 2011.

BITTER, K.; KIELBASSA, A. M. Post-endodontic restorations with adhesively luted fiber-reinforced composite post systems. **Am J Dent**, v. 20, n. 6, p. 353-60, 2007.

BONILLA, C. M. C. **Radioterapia ativa e inibidores de proteases inativam MMPs, na junção amelodentinária de dentes permanentes**. Ribeirão Preto: Dissertação de Mestrado [Universidade de São Paulo – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto]. 2016.

BOTTA, S. B.; ANA, P. A.; SANTOS, M. O.; ZECELL, D. M.; MATOS, A. B. Effect of dental tissue conditioners and matrix metalloproteinase inhibitors on type I collagen microstructure analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 100, n. 4, p. 1009-1016, 2012.

BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; NATO, F.; CARRILHO, M.; VISINTINI, E.; TJADERHANE, L.; RUGGERI, A. JR.; TAY, F. R.; DORIGO EDE, S.; PASHLEY, D. H. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface. **Dent Mater J**, v. 26, n. 4, p. 320-325, 2010.

BRITO-JÚNIOR, M.; LEONI, G. B.; PEREIRA, R. D.; FARIA-E-SILVA, A. L.; GOMES, E. A.; SILVA-SOUSA, Y. T.; SOUSA-NETO, M. D. A Novel Dentin Push-out Bond Strength Model That Uses Micro-Computed Tomography. **J Endod**, v. 41, n. 12, p. 2058-63, 2015.

BRODY, S. The dentist's role within the multi-disciplinary team maintaining quality of life for oral cancer patients in light of recent advances in radiotherapy. **J Ir Dent Assoc**, v. 59, n. 3, p. 137-146, 2013.

CAMPI, L. B.; LOPES, F. C.; SOARES, L. E. S.; QUEIROZ, A. M.; OLIVEIRA, H. F.; SAQUY, P. C.; SOUSA-NETO, M. D. Effect of radiotherapy on the chemical composition of root dentin. **Head Neck**, 2018. [Epub ahead of print].

CARNEIRO, S. M.; SOUSA-NETO, M. D.; RACHED JR, F. A.; MIRANDA, C. E.; SILVA, S. R.; SILVA-SOUSA, Y. T. Push-out strength of root fillings with or without thermomechanical compaction. **Int Endod J**, v. 45, n. 9, p. 821-828, 2012.

CARRILHO, M. R.; CARVALHO, R. M.; DE GOES, M. F.; DI HIPÓLITO, V.; GERALDELI, S.; TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; TJÄDERHANE, L. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. **J Dent Res**, v. 86, n. 1, p. 90-4, 2007.

CARRILHO, M. R.; CARVALHO, R. M.; SOUSA, E. N.; NICOLAU, J.; BRESCHI, L.; MAZZONI, A. Substantivity of chlorhexidine to human dentin. **Dent Mater**, v. 26, n. 8, p. 779-85, 2010.

CASIGLIA, J.; WOO, S. B. A comprehensive review of oral cancer. **Gen Dent**, v. 49, n. 1, p. 72-82, 2001.

CASTELLAN, C. S.; SANTOS-FILHO, P. C.; SOARES, P. V.; SOARES, C. J.; CARDOSO, P. E. Measuring bond strength between fiber post and root dentin: a comparison of different tests. **J Adhes Dent**, v. 12, n. 6, p. 477- 485, 2010.

CECCHIN, D.; DE ALMEIDA, J. F.; GOMES, B. P.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. Effect of chlorhexidine and ethanol on the durability of the adhesion of the fiber post relined with resin composite to the root canal. **J Endod**, v. 37, n. 5, p. 678-683, 2011.

CECCHIN, D.; FARINA, A. P.; GIACOMIN, M.; VIDAL CDE, M.; CARLINI-JUNIOR, B.; FERRAZ, C. C. Influence of chlorhexidine application time on the bond strength between fiber posts and dentin. **J Endod**, v. 40, n. 12, p. 2045-2048, 2014.

CHACHOUAY, H.; OHNESEIT, P.; TOULANY, M.; KEHLBACH, R.; MULTHOFF, G.; RODEMANN, H. P. Autophagy contributes to resistance of tumor cells to ionizing radiation. **Radiother Oncol**, v. 99, n. 3, p. 287-92, 2011.

CHISTIAKOV, D. A.; VORONOVA, N. V.; CHISTIAKOV, P. A. Genetic variations in DNA repair genes, radiosensitivity to cancer and susceptibility to acute tissue reactions in radiotherapy-treated cancer patients. **Acta Oncológica**, v. 47, n. 5, p. 809-824, 2008.

CHOI, J. H.; CHO, M. Calculations of intermode coupling constants and simulations of amide I, II, III vibrational spectra of dipeptides. **Chem Phys**, v. 361, n. 1, p. 168-175, 2009.

COLE, T.; SILVER, A. H. Production of hydrogen atoms in teeth by x-irradiation. **Nature**, v. 200, n. 16, p. 700-701, 1963.

COSTA, J. A.; RACHED-JÚNIOR, F. A.; SOUZA-GABRIEL, A. E.; SILVA-SOUSA, Y. T.; SOUSA-NETO, M. D. Push-out strength of methacrylate resin- based sealers to root canal walls. **Int Endod J**, v. 43, n. 8, p. 698-706, 2010.

DE MUNCK, J.; VAN MEERBEEK, B.; YOSHIDA, Y.; INOUE, S.; VARGAS, M.; SUZUKI, K.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. **J Dent Res**, v. 82, n. 2, p. 136-40, 2003.

DE SÁ FERREIRA, E. M.; SOARES, L. E.; ANTUNES, H. S.; UEMURA, S. T.; DA SILVA BARBOSA, P.; SALMON, H. A. JR.; DE SANT'ANNA, G. R. Effect of therapeutic doses of radiotherapy on the organic and inorganic contents of the deciduous enamel: an in vitro study. **Clin Oral Investig**, v. 20, n. 8, p. 1953-1961, 2016.

DE SIQUEIRA MELLARA, T.; PALMA-DIBB, R. G.; DE OLIVEIRA, H. F.; GARCIA, F. W.; NELSON-FILHO, P.; DA SILVA, R. A.; DA SILVA, L. A.; DE QUEIROZ, A. M. The effect of radiation therapy on the mechanical and morphological properties of the enamel and dentin of deciduous teeth--an *in vitro* study. **Radiat Oncol**, v. 22, n. 9, p. 30, 2014.

DENG, D.; HUANG, X.; HUANG, C.; YANG, T.; DU, X.; WANG, Y.; OUYANG, X.; PEI, D. Effects of chlorhexidine on bonding durability of different adhesive systems using a novel thermocycling method. **Aust Dent J**, v. 58, n. 2, p. 148-55, 2013.

DI RENZO, M.; ELLIS, T.H.; SACHER, E.; STANGEL, I. A photoacoustic FTIRS study of the chemical modifications of human dentin surfaces: II. Deproteination. **Biomaterials**, v. 22, n. 8, p. 793-797, 2001.

DOBROŚ, K.; HAJTO-BRYK, J.; WRÓBLEWSKA, M.; ZARZECKA, J. Radiation-induced caries as the late effect of radiation therapy in the head and neck region. **Contemp Oncol**, v. 20, n. 4, p. 287-290, 2016.

DURSKI, M.; METZ, M.; CRIM, G.; HASS, S.; MAZUR, R.; VIEIRA, S. Effect of chlorhexidine treatment prior to fiber post cementation on long-term resin cement bond strength. **Oper Dent**, v. 43, n. 2, p. E72-E80, 2018.

DZIEDZIC-GOCLAWSKA, A.; KAMINSKI, A.; UHRYNOWSKA-TYSZKIEWICZ, I.; STACHOWICZ, W. Irradiation as a safety procedure in tissue banking. **Cell Tissue Bank**, v. 6, n. 3, p. 201-219, 2005.

EMBERY, G.; HALL, R.; WADDINGTON, R.; SEPTIER, D.; GOLDBERG, M. Proteoglycans in dentinogenesis. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 12, n. 4, p. 331-49, 2001.

EPSTEIN, J. B.; THARIAT, J.; BENSADOUN, R. Oral Complications of Cancer and Cancer Therapy: From Cancer Treatment to Survivorship. **CA Cancer J Clin**, v. 62, n. 6, p. 400-422, 2012.

FALK, A. T.; HÉBERT, C.; TRAN, A.; CHAND, M. E.; LEYSALLE, A.; THARIAT, J.; DASSONVILLE, O.; POISSONNET, G.; BOZEC, A.; SAADA, E.; PEYRADE, F.; BENEZERY, K. Radiotherapy for elderly patients and cetuximab, a monocentric study. **Eur Arch Otorhinolaryngol**, v. 274, n. 2, p. 1061-1065, 2017.

FANUCCHI, M.; KHURI, F. D.; SHIN, D.; JOHNSTONE, P. A. S.; CHEN, A. Update in the management of head and neck cancer. **Update on Cancer Therapeutics**, v. 1, n. 2, p. 211-219, 2006.

FARIA E SILVA A. L.; CASSELLI, D. S.; AMBROSANO, G. M.; MARTINS, L. R. Effect of the adhesive application mode and fiber post translucency on the push-out bond strength to dentin. **J Endod**, v. 33, n. 9, 1078–81, 2007.

FERGUSON, D. M. D.; STEVENS, M. R. Advances in Head and Neck Radiotherapy to the Mandible. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am**, v.19, n. 4, p. 553-563, 2007.

FERRACANE, J. L.; STANSBURY, J. W.; BURKE, F. J. Selfadhesive resin cements—Chemistry, properties and clinical considerations. **J Oral Rehabil**, v. 38, n. 4, p. 295-314, 2011.

FERRARI, M.; MASON, P. N.; GORACCI, C.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R. Collagen degradation in endodontically treated teeth after clinical function. **J Dent Res**, v. 83, n. 5, p. 414–419, 2004.

FERRARI, M.; VICHI, A.; MANNOCCI, F.; MASON, P. N. Retrospective study of the clinical performance of fiber posts. **J Endod**, v. 13, p. 9B-13B, 2000.

FISHER, B. V.; MORGAN, R. E.; PHILLIPS, G. O.; WARDALE, H. W. Radiation damage in calcium phosphates and collagen: an interpretation of ESR spectra. **Radiat Res**, v. 46, n. 2, p. 229-235, 1971.

FISHER, M. A.; BERZINS, D. W.; BAHCALL, J. K. An in vitro comparison of bond strength of various obturation materials to root canal dentin using a push-out test design. **J Endod**, v. 33, n. 7, p. 856-858, 2007.

FLETCHER, G. H. Regaud lecture perspectives on the history of radiotherapy. **Radiother Oncol**, v. 12, n. 4, p. 253-272, 1988.

FRÄNZEL, W.; GERLACH, R. The irradiation action on human dental tissue by X-rays and electrons--a nanoindenter study. **Z Med Phys**, v. 19, n. 1, p. 5-10, 2009.

GALETTI, R.; SANTOS-SILVA, A. R.; ANTUNES, N. G. A.; ALVES, A. F.; LOPES, M. A.; DE GOES, M. F. Radiotherapy does not impair dentin adhesive properties in head and neck cancer patients. **Clin Oral Investig**, v. 18, n. 7, p. 1771-1778, 2014.

GAUDET, M. M.; KITAHARA, C. M.; NEWTON, C. C.; BERNSTEIN, L.; REYNOLDS, P.; WEIDERPASS, E.; KREIMER, A. R.; YANG, G.; ADAMI, H. O.; ALAVANJA, M. C.; BEANE FREEMAN, L. E.; BOEING, H.; BURING, J.; CHATURVEDI, A.; CHEN, Y.; D'ALOISIO, A. A.; FREEDMAN, M.; GAO, Y. T.; GAZIANO, J. M.; GILES, G. G.; HÅKANSSON, N.; HUANG, W. Y.; LEE, I. M.; LINET, M. S.; MACINNIS, R. J.; PARK, Y.; PRIZMENT, A.; PURDUE, M. P.; RIBOLI, E.; ROBIEN, K.; SANDLER, D. P.; SCHAIRER, C.; SESSO, H. D.; OU SHU, X.; WHITE, E.; WOLK, A.; XIANG, Y. B.; ZELENUICH-JACQUOTTE, A.; ZHENG, W.; PATEL, A. V.; HARTGE, P.; BERRINGTON DE GONZÁLEZ, A.; GAPSTUR, S. M. Anthropometry and head and neck cancer: a pooled analysis of cohort data. **Int J Epidemiol**, v. 44, n. 2, p. 673-81, 2015.

GELSE, K.; POSCHL, E.; AIGNER, T. Collagens--structure, function, and biosynthesis. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 55, n. 12, p.1531-1546, 2003.

GEORGE, A.; VEIS, A. FTIRS in water demonstrates that collagen monomers undergo a conformational transition prior to thermal self-assembly in vitro. **Biochemistry**, 30, 2372-2377, 1991.

GERMANO, F.; MELONE, P.; TESTI, D.; ARCURI, L.; MARMIROLI, L.; PETRONE, A.; ARCURI, C. Oral complications of head and neck radiotherapy: prevalence and management. **Minerva Stomatol**, v. 64, n. 4, p. 189-202, 2015.

GILLISON, ALEMANY, L.; SNIJDERS, P. J.; CHATURVEDI, A.; STEINBERG, B. M.; SCHWARTZ, S.; CASTELLSAGUÉ, X. Human papillomavirus and diseases of the upper airway: head and neck cancer and respiratory papillomatosis. **Vaccine**, v. 30, n. 5, p. F34-54, 2012.

GLENNY, A. M.; FURNESS, S.; WORTHINGTON, H. V.; CONWAY, D. I.; OLIVER, R.; CLARKSON, J. E.; MACCLUSKEY, M.; PAVITT, S.; CHAN, K. K.; BROCKLEHURST, P. Interventions for the treatment of oral cavity and oropharyngeal cancer: radiotherapy. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 8, n. 12, p. CD006387, 2010.

GLOBOCAN – International Agency for Cancer Research. Disponível em: <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx> (Acessado em 14/05/2018).

GOHO, C. Chemoradiation therapy: effect on dental development. **Pediatr Dent**, v. 15, n. 1, p. 6-12, 1993.

GONÇALVES, L. M. N.; PALMA-DIBB, R. G.; PAULA-SILVA, F. W.; OLIVEIRA, H. F.; NELSON-FILHO, P.; SILVA, L. A.; QUEIROZ, A. M. Radiation therapy alters microhardness and microstructure of enamel and dentin of permanent human teeth. **J Dent**, v. 42, n. 8, p. 986-992, 2014.

GULDENER, K. A.; LANZREIN, C. L.; SIEGRIST GULDENER, B. E.; LANG, N. P.; RAMSEIER, C. A.; SALVI, G. E. Long-term clinical outcomes of endodontically treated teeth restored with or without fiber post-retained single-unit restorations. **J Endod**, v. 43, n. 2, p. 188-193, 2016.

GUPTA, N.; PAL, M.; RAWAT, S.; GREWAL, S.; GARG, H.; CHAUHAN, D.; AHLAWAT, P.; TANDON, S.; KHURANA, R.; PAHUJA, K.; MAYANK, M.; DEVNANI, B. Radiation-induced dental caries, prevention and treatment - A systematic review. **Natl J Maxillofac Surg**, v. 6, n. 2, p. 160-6, 2015.

HALLER, B. Recent developments in dentin bonding. **Am J Dent**, v. 13, n. 1, p. 44-50, 2000.

HARAGUSHIKU, G. A.; TEIXEIRA, C. S.; FURUSE, A. Y.; SOUSA, Y. T.; DE SOUSA NETO, M. D.; SILVA, R. G. Analysis of the interface and bond strength of resin- based endodontic cements to root dentin. **Microsc Res Tech**, v. 75, n. 5, p. 655-661, 2012.

HASHIMOTO, M.; OHNO, H.; SANO, H.; KAGA, M.; OGUCHI, H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. **Biomaterials**, v. 24, p. 3795-803, 2003.

HASHIMOTO, M.; OHNO, H.; SANO, H.; TAY, F. R.; KAGA, M.; KUDOU, Y.; OGUCHI, H.; ARAKI, Y.; KUBOTA, M. Micromorphological changes in resin-dentin bonds after 1 year of water storage. **J Biomed Mater Res**, v. 63, n. 3, p. 306-311, 2002.

HEBLING, J.; PASHLEY, D. H.; TJÄDERHANE, L.; TAY, F. R. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. **J Dent Res**, v. 84, n. 8, p. 741-6, 2005.

JANSMA, J.; BUSKES, J. A.; VISSINK, A.; MEHTA, D. M.; GRAVENMADE, E. J. The effect of X-ray irradiation on the demineralization of bovine dental enamel. A constant composition study. **Caries Res**, v. 22, n. 4, p. 199-203, 1988.

JEMAL, A.; BRAY, F.; CENTER, M. M.; FERLAY, J.; WARD, E.; FORMAN, D. Global cancer statistics. **CA Cancer J Clin**, v. 61, n. 2, p. 69-90, 2011.

JEMAL, A.; SIEGEL, R.; WARD, E.; HAO, Y.; XU, J.; MURRAY, T. Cancer statistics. **CA Cancer J Clin**, v. 58, n. 71, p. 96, 2008.

JHAM, B. C.; REIS, P. M.; MIRANDA, E. L.; LOPES, R. C.; CARVALHO, A. L.; SCHEPER, M. A.; FREIRE, A. R. Oral health status of 207 head and neck cancer patients before, during and after radiotherapy. **Clin Oral Investig**, v. 12, n. 1, p. 19-24, 2008.

JOINER, M.; VAN DER KOGEL, A. Basic Clinical Radiobiology - Fourth edition. **Hodder Arnold Publication**, 2009.

KHAN, S.; FERROZ, S.; JAIN, M.; MATHUR, V.; KHAN S. Effect of Fractionated Dose of Radiotherapy on Oral Mucosa in Head and Neck Cancer Patients: A Cytological Assessment. **Gulf J Oncolog**, v.1, n. 21, p. 30-35, 2016.

KHAW, A.; LOGAN, R.; KEEFE, D.; BARTOLD, M. Radiation-induced oral mucositis and periodontitis - proposal for an inter-relationship. **Oral Dis**, v. 20, n. 3, p. 7-18, 2014.

KIELBASSA, A. M. In situ induced demineralization in irradiated and non-irradiated human dentin. **Eur J Oral Sci**, v. 108, n. 3, p. 214-21, 2000.

KIELBASSA, A. M.; BEETZ, I.; SCHENDERA, A.; HELLWIG, E. Irradiation effects on microhardness of fluoridated and non-fluoridated bovine dentin. **Eur J Oral Sci**, v. 105, n. 5, p. 444-447, 1997.

KIELBASSA, A. M.; HINKELBEIN, W.; HELLWIG, E.; MEYER-LÜCKEL, H. Radiation-related damage to dentition. **Lancet Oncol**, v. 7, n. 4, p. 326-35, 2006.

KIM, Y. K.; KIM, S. K.; KIM, K. H.; KWON, T. Y. Degree of conversion of dual-cured resin cement light-cured through three fibre posts within human root canals: an ex vivo study. **Int Endod J**, v. 42, n. 8, p. 667-674, 2009.

KOCHUEVA, M. V.; IGNATIEVA, N. Y.; ZAKHARKINA, O. L. Collagen structural changes in early radiation-induced damage. **Sovrem Tehnologii Med**, v. 4, 2012.

KUMAR, O.; RAO, R. N. Three-dimensional finite element analysis of stress distribution in a tooth restored with metal and fiber posts of varying diameters: An in vitro study. **J Conserv Dent**, v. 18, n. 2, p.100-104, 2015.

KYRGIAS, G.; HAJIOANNOU, J.; TOLIA, M.; KOULOULIAS, V.; LACHANAS, V.; SKOULAKIS, C.; SKARLATOS, I.; RAPIDIS, A.; BIZAKIS, I. Intraoperative radiation therapy (IORT) in head and neck cancer: A systematic review. **Medicine (Baltimore)**, v. 95, n. 50, p. 1-13, 2016.

LE BELL, A. M.; TANNER, J.; LASSILA, L. V.; KANGASNIEMI, I.; VALLITTU, P. Bonding of composite resin luting cement to fiber-reinforced composite root canal posts. **J Adhes Dent**, v. 6, n. 4, p. 319-325, 2004.

LEITUNE, V. C.; COLLARES, F. M.; WERNER SAMUEL, S. M. Influence of chlorhexidine application at longitudinal push-out bond strength of fiber posts. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 110, n. 5, p. e77-e81, 2010.

LI, S. H.; LU, Y.; SONG, D.; ZHOU, X.; ZHENG, Q. H.; GAO, Y.; HUANG, D. M. Occurrence of dentinal microcracks in severely curved root canals with protaper universal, waveone, and protaper next file systems. **J Endod**, v. 41, n. 11, p. 1875-1879, 2015.

LIANG, X.; ZHANG, J.; CHENG, K.; LI, Y. Effect of high energy X-ray irradiation on the nano-mechanical properties of human enamel and dentine. **Braz Oral Res**, v. 30, 2016.

LIAO, L. Q.; YAN, H. H.; MAI, J. H.; LIU, W. W.; LI, H.; GUO, Z. M.; ZENG, Z. Y.; LIU, X. K. Radiation-induced osteosarcoma of the maxilla and mandible after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma. **Chin J Cancer**, v. 35, n. 1, p. 89, 2016.

LIESHOUT, H. F. J.; BOTS, C. P. The effect of radiotherapy on dental hard tissue—a systematic review. **Clin Oral Investig**, v. 18, n. 1, p. 17-24, 2014.

LIN, J.; SHINYA, A.; GOMI, H.; SHINYA, A. Bonding of self-adhesive resin cements to enamel using different surface treatments: bond strength and etching pattern evaluations. **Dent Mater J**, v. 29, n. 4, p. 425-432, 2010.

LIU, Y.; TJADERHANE, L.; BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; LI, N.; MAO, J.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. **J Dent Res**, v. 90, n. 8, p. 953-968, 2011.

LO, S. L.; YEN, Y. H.; LEE, P. J.; CHIH-HO LIU, C.; PU, C. M. Factors Influencing Postoperative Complications in Reconstructive Microsurgery for Head and Neck Cancer. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 75, n. 4, p. 867-873, 2017.

LOPES, F. C.; ROPERTO, R.; AKKUS, A.; AKKUS, O.; PALMA-DIBB, R. G.; DE SOUSA-NETO, M. D. Effect of laser activated bleaching on the chemical stability and morphology of intracoronal dentin. **Arch Oral Biol**, v. 86, n. 1, p. 40-45, 2018.

LOPES, F. C.; ROPERTO, R.; AKKUS, A.; AKKUS, O.; SOUZA-GABRIEL, A. E.; SOUSA-NETO, M. D. Effects of different lasers on organic/inorganic ratio of radicular dentin. **Lasers Med Sci**, v. 31, n. 3, p. 415-20, 2016.

MANFRO, A. R.; REIS, A.; LOGUERCIO, A. D.; IMPARATO, J. C.; RAGGIO, D. P. Effect of different concentrations of chlorhexidine on bond strength of primary dentin. **Pediatr Dent**, v. 34, n. 2, p. 11-5, 2012.

MANICARDI, C. A.; VERSIANI, M. A.; SAQUY, P. C.; PÉCORA, J. D.; SOUSA-NETO, M. D. Influence of filling materials on the bonding interface of thin-walled roots reinforced with resin and quartz fiber posts. **J Endod**, v. 37, n. 4, p. 531-537, 2011.

MARKITZIU, A.; GEDALIA, I.; RAJSTEIN, J.; GRAJOVER, R.; YARSHANSKI, O.; WESHLER, Z. In vitro irradiation effects on hardness and solubility of human enamel and dentin pretreated with fluoride. **Clin Prev Dent**, v. 8, n. 4, p. 4-7, 1986.

MARSHALL, G. W. JR.; MARSHAL, S. J.; KINNEY, J. H.; BALOOCH M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. **J Dent**, v. 25, n. 6, p. 441–58, 1997.

MARTINHO, F. C.; CARVALHO, C. A.; OLIVEIRA, L. D.; DE LACERDA, A. J.; XAVIER, A. C.; AUGUSTO, M. G.; ZANATTA, R. F.; PUCCI, C. R. Comparison of different dentin pretreatment protocols on the bond strength of glass fiber post using self-etching adhesive. **J Endod**, v. 41, n. 1, p. 83-7, 2015.

MARTINS, C. V.; LEONI, G. B.; OLIVEIRA, H. F.; ARID, J.; QUEIROZ, A. M.; SILVA, L. A.; SOUSA-NETO, M. D. Influence of therapeutic cancer radiation on the bond strength of an epoxy- or an MTA-based sealer to root dentine. **Int Endod J**, v. 49, n. 11, p. 1065-1072, 2016.

MAZZOLA, R.; FIORENTINO, A.; RICCHETTI, F.; GREGUCCI, F.; CORRADINI, S.; ALONGI, F. An update on radiation therapy in head and neck cancers. **Expert Rev Anticancer Ther**, v. 18, n. 4, p. 359-364, 2018.

MAZZONI, A.; APOLONIO, F. M.; SABOIA, V. P.; SANTI, S.; ANGELONI, V.; CHECCHI, V.; CURCI, R.; DI LENARDA, R.; TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; BRESCHI, L. Carbodiimide inactivation of MMPs and effect on dentin bonding. **J Dent Res**, v. 93, n. 3, p. 263-268, 2014.

MCCAUL, L. K. Oral and Dental Management for Head and Neck Cancer Patients Treated by Chemotherapy and Radiotherapy. **Dent Update**, v.39, n. 2, p.135–140, 2012.

MCGUIRE, J. D.; MOUSA, A. A.; ZHANG, B. J.; TODOKI, L. S.; HUFFMAN, N. T.; CHANDRABABU, K. B.; MORADIAN-OLDAK, J.; KEIGHTLEY, A.; WANG, Y.; WALKER, M. P.; GORSKI, J. P. Extracts of irradiated mature human tooth crowns contain MMP-20 protein and activity. **J Dent**, v. 42, n. 5, p. 626-35, 2014.

MOON, D. H.; MOON, S. H.; WANG, K.; WEISSLER, M. C.; HACKMAN, T. G.; ZANATION, A. M.; THORP, B. D.; PATEL, S. N.; ZEVALLOS, J. P.; MARKS, L. B.; CHERA, B. S. Incidence of, and risk factors for, mandibular osteoradionecrosis in patients with oral cavity and oropharynx cancers. **Oral Oncol**, v. 72, n. 1, p. 98-10, 2017.

MORADI, S.; GHODDUSI, J.; FORGHANI, M. Evaluation of dentinal tubule penetration after the use of dentin bonding agent as a root canal sealer. **J Endod**, v. 35, n. 11, p. 1563-1566, 2009.

MUSHASHE, A. M.; GONZAGA, C. C.; CUNHA, L. F.; FURUSE, A. Y.; MORO, A.; CORRER G. M. Effect of enamel and dentin surface treatment on the self-adhesive resin cement bond strength. **Braz Dent J**, v. 27, n. 5, p. 537-542, 2016.

NAUMANN, M.; KOELPIN, M.; BEUER, F.; MEYER-LUECKEL, H. 10-year survival evaluation for glass-fiber-supported postendodontic restoration: A prospective observational clinical study. **J Endod**, v. 38, n. 4, p. 432-435, 2012.

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**, v. 20, n. 11, p. 2873-2878, 2012.

NESS-JENSEN, E.; GOTTLIEB-VEDI, E.; WAHLIN, K.; LAGERGREN, J. All-cause and cancer-specific mortality in GORD in a population-based cohort study (the HUNT study). **Gut**, v. 67, n. 2, p. 209-215, 2018.

OCF – The Oral Câncer Foundation – Disponível em: <http://oralcancerfoundation.org> (Acessado em 15/05/18).

OLDE DAMINK, L. H.; DIJKSTRA, P. J.; VAN LUYN, M. J.; VAN WACHEM, P. B.; NIEUWENHUIS, P.; FEIJEN, J. In vitro degradation of dermal sheep collagen cross-linked using a water-soluble carbodiimide. **Biomaterials**, v. 17, n. 7, p. 679-84, 1996a.

OLDE DAMINK, L. H.; DIJKSTRA, P. J.; VAN LUYN, M. J.; VAN WACHEM, P. B.; NIEUWENHUIS, P.; FEIJEN, J. Cross-linking of dermal sheep collagen using a water-soluble carbodiimide. **Biomaterials**, v. 17, n. 7, p. 765-73, 1996b.

PAIOLA F. G.; LOPES, F. C.; MAZZI-CHAVES, J. F.; PEREIRA, R. D.; OLIVEIRA, H. F.; QUEIROZ, A. M.; SOUSA-NETO, M. D. How to improve the root canal filling in teeth subjected to therapeutic cancer radiation? 2018. (*Submitted*)

PASHLEY, D. H.; CARVALHO, R. M. Dentine permeability and dentine adhesion. **J Dent**, v. 25, n. 5, p. 355-372, 1997.

PASHLEY, D. H.; TAY, F. R.; YIU, C.; HASHIMOTO, M.; BRESCHI, L.; CARVALHO, R. M. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. **J Dent Res**, v. 83, p. 216-221, 2004.

PAVAN, S.; SANTOS, P. H.; BERGER, S.; BEDRAN-RUSSO, A. K. The effect of dentin pretreatment on the microtensile bond strength of self-adhesive resin cements. **J Prosthet Dent**, v. 104, n. 4, p. 258-264, 2010.

PELEGRINE, R. A.; PAULILLO, L. A.; KATO, A. S.; FONTANA, C. E.; PINHEIRO, S. L.; DE MARTIN, A. S.; BUENO, C. E. Effect of endodontic retreatment on push-out

bond strength and quality of fiber postbonding interface of resin cements. **J Contemp Dent Pract**, v. 17, n. 1, p. 42-48, 2016.

PEREIRA, R. D.; BRITO-JÚNIOR, M.; LEONI, G. B.; ESTRELA, C.; DE SOUSA-NETO, M. D. Evaluation of bond strength in single-cone fillings of canals with different cross-sections. **Int Endod J**, v. 50, n. 2, p. 177-183, 2017.

PEREIRA, R. D.; VALDÍVIA, A. D.; BICALHO, A. A.; FRANCO, S. D.; TANTBIROJN, D.; VERSLUIS, A.; SOARES, C. J. Effect of Photoactivation Timing on the Mechanical Properties of Resin Cements and Bond Strength of Fiberglass Post to Root Dentin. **Oper Dent**, v. 40, n. 5, p. E206-21, 2015.

PIOCH, T.; GOLFELS, D.; STAEHLE, H. J. An experimental study of the stability of irradiated teeth in the region of the dentinoenamel junction. **Endod Dent Traumatol**, v. 8, n. 6, p. 241-4, 1992.

PRADO, N. A. S.; FERREIRA, R. S.; PINHO-MAURICIO, M. H.; PACIORNIK, S.; MIRANDA, M. S. Influence of the cement film thickness on the push-out bond strength of glass fiber posts cemented in human root canals. **Int J Dent**, v. 2016, p. 9319534, 2016.

QING, P.; HUANG, S.; GAO, S.; QIAN, L.; YU, H. Effect of gamma irradiation on the wear behavior of human tooth dentin. **Clin Oral Investig**, v. 20, n. 9, p. 2379-2386, 2016.

RADOVIC, I.; CORCIOLANI, G.; MAGNI, E.; KRSTANOVIC, G.; PAVLOVIC, V.; VULICEVIC, Z. R.; FERRARI, M. Light transmission through fiber post: The effect on adhesion, elastic modulus and hardness of dual-cure resin cement. **Dent Mater**, v. 25, n. 7, p. 837-844, 2009.

RADOVIC, I.; MONTICELLI, F.; GORACCI, C.; VULICEVIC, Z.; FERRARI, M. Self-adhesive resin cements: a literature review. **J Adhes Dent**, v. 10, n. 4, p. 251-258, 2008.

REED, R.; XU, C.; LIU, Y.; GORSKI, J. P.; WANG, Y.; WALKER, M. P. Radiotherapy effect on nano-mechanical properties and chemical composition of enamel and dentine. **Arch Oral Biol**, v. 60, n. 5, p. 690-7, 2015.

RETTIG, E. M.; D'SOUZA, G. Epidemiology of head and neck cancer. **Surg Oncol Clin N Am**, v. 24, n. 3, p. 379-96, 2015.

RICCI, H. A.; SANABE, M. E.; DE SOUZA COSTA, C. A.; PASHLEY, D. H.; HEBLING, J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. **Eur J Oral Sci**, v. 118, n. 4, p. 411-6, 2010.

ROPERTO, R. C.; PORTO, T. S.; LANG, L.; TEICH, S.; WEBER, S.; EL-MOWAFY, O.; PORTO-NETO, S. T. Microtensile bond strength between a UDMA fiber post and different resin cements: effect of pre-surface treatment. **Dent Mater J**, v. 35, n. 6, p. 923-928, 2016.

ROŚ-MAZURCZYK, M.; WOJAKOWSKA, A.; MARCZAK, L.; POLAŃSKI, K.; PIETROWSKA, M.; JELONEK, K.; DOMIŃCZYK, I.; HAJDUK, A.; RUTKOWSKI, T.; SKŁADOWSKI, K.; WIDLAK, P. Ionizing radiation affects profile of serum metabolites: increased level of 3-hydroxybutyric acid in serum of cancer patients treated with radiotherapy. **Acta Biochim Pol**, v. 64, n. 1, p. 189-193, 2017.

ROSALES, C. M. N.; ESTEVES, S. C. B.; ALMEIDA, J. O. P. A.; LOPES, M. A. Dental Needs in Brazilian Patients Subjected to Head and Neck Radiotherapy. **Braz Dent J**, v. 20, n.1, p. 74-77, 2009.

SANTIN, G. C.; PALMA-DIBB, R. G.; ROMANO, F. L.; DE OLIVEIRA, H. F.; NELSON FILHO, P.; DE QUEIROZ, A. M. Physical and adhesive properties of dental enamel after radiotherapy and bonding of metal and ceramic brackets. **American Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 148, n. 2, p. 283-292, 2015.

SANTOS, J.; CARRILHO, M.; TERVAHARTIALA, T.; SORSA, T.; BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; PASHLEY, D.; TAY, F.; FERRAZ, C.; TJADERHANE, L. Determination of matrix metalloproteinases in human radicular dentin. **J Endod**, v. 35, n. 5, p. 686-689, 2009.

SCAFFA, P. M.; VIDAL, C. M.; BARROS, N.; GESTEIRA, T. F.; CARMONA, A. K.; BRESCHI, L.; PASHLEY, D. H.; TJADERHANE, L.; TERSARIOL, I. L.; NASCIMENTO, F. D.; CARRILHO, M. R. Chlorhexidine inhibits the activity of dental cysteine cathepsins. **J Dent Res**, v. 91, n. 4, p. 420-425, 2012.

SCHÄFER, E.; KÖSTER, M.; BÜRKLEIN, S. Percentage of gutta-percha-filled areas in canals instrumented with nickel-titanium systems and obturated with matching single cones. **J Endod**, v. 39, n. 7, p. 924-928, 2013.

SCHEFFEL, D. L.; HEBLING, J.; SCHEFFEL, R. H.; AGEE, K.; TURCO, G.; DE SOUZA COSTA, C. A.; PASHLEY, D. Inactivation of matrix-bound matrix metalloproteinases by cross-linking agents in acid-etched dentin. **Oper Dent**, v. 39, n. 2, p. 152-8, 2014.

SCHEFFEL, D. L.; BIANCHI, L.; SOARES, D. G.; BASSO, F. G.; SABATINI, C.; DE SOUZA COSTA, C. A.; PASHLEY, D. H.; HEBLING, J. Transdental cytotoxicity of carbodiimide (EDC) and glutaraldehyde on odontoblast-like cells. **Oper Dent**, v. 40, n. 1, p. 44-54, 2015a.

SCHEFFEL, D. L.; DELGADO, C. C.; SOARES, D. G.; BASSO, F. G.; DE SOUZA COSTA, C. A.; PASHLEY, D. H.; HEBLING, J. Increased durability of resin-dentin bonds following cross-linking treatment. **Oper Dent**, v. 40, n. 5, p. 533-9, 2015b.

SHAFIEI, F.; DOOZANDEH, M.; ALAVI, A. A. Effect of resin coating and chlorhexidine on the microleakage of two resin cements after storage. **J Prosthodont**, v. 20, n. 2, p. 106-112, 2011.

SHAFIEI, F.; YOUSEFIPOUR, B.; MOHAMMADI-BASSIR, M. Effect of carbodiimide on bonding durability of adhesive-cemented fiber posts in root canals. **Oper Dent**, v. 41, n. 4, p. 432-40, 2016.

SHENOY, V. K.; SHENOY, K. K.; RODRIGUES, S.; SHETTY, P. Management of oral health in patients irradiated for head and neck cancer: a review, **Kathmandu Univ Med J**, v. 5, n. 1, p. 117-120, 2007.

SHOKOUHINEJAD, N.; SABETI, M.; GORJESTANI, H.; SAGHIRI, M. A.; LOTFI, M.; HOSEINI, A. Penetration of Epiphany, Epiphany self-etch, and AH Plus into dentinal tubules: a scanning electron microscopy study. **J Endod**, v. 37, n. 9, p. 1316-1319, 2011.

SHUI, C. Y.; LI, C.; LIU, W.; CAI, Y. C.; JIANG, J.; SUN, R. H.; ZHOU, Y. Q.; QIN, G. Research progress in pathogenesis, treatment and prognosis of HPV positive head and neck squamous cell carcinoma. **Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi**, v. 53, n. 5, p. 392-396, 2018.

SILVA, A. R.; ALVES, F. A.; ANTUNES, A.; GOES, M. F.; LOPES, M. A. Patterns of demineralization and dentin reactions in radiation-related caries. **Caries Res**, v. 43, n. 1, p. 43-9, 2009.

SINGH, P.; NAGPAL, R.; SINGH, U. P.; MANUJA, N. Effect of carbodiimide on the structural stability of resin/dentin interface. **J Conserv Dent**, v. 19, n. 6, p. 501-509, 2016.

SOARES, C. J.; CASTRO, C. G.; NEIVA, N. A.; SOARES, P. V.; SANTOS-FILHO, P. C. F.; NAVES, L. Z.; PEREIRA, P. N. R. Effect of gamma irradiation on ultimate tensile strength of enamel and dentin. **J Dent Res**, v. 89, n. 2, p.159-164, 2010.

SOARES, C. J.; NEIVA, N. A.; SOARES, P. B. Effects of chlorhexidine and fluoride on irradiated enamel and dentin. **J Dent Res**, v. 9, n. 5, p. 659-664, 2011.

SOARES, L. E.; DO ESPÍRITO SANTO, A. M.; BRUGNERA, A.; ZANIN, F. A.; MARTIN, A. A. Effects of Er:YAG laser irradiation and manipulation treatments on dentin components, part 2: energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry study. **J Biomed Opt**, v. 14, n. 2, p. 024002, 2009.

SONG, S.; STENSON, K. M.; BROCKSTEIN, B. E. Overview of treatment for head and neck cancer. **UpToDate Wolters Kluwer**, 2016.

SOUZA-GABRIEL, A. E.; SOUSA-NETO, M. D.; URURAHY, M. S.; ANDRADE, L. M.; FARAONI, J. J.; ROMEO, U.; PALMA-DIBB, R. G. Analysis of adhesive interface in root canals irradiated by Er,Cr:YSGG laser after luting a fiber post. **Microsc Res Tech**, v. 79, n. 11, p. 1090-1096, 2016.

SOUZA, M.; CECCHIN, D.; FARINA, A. P.; LEITE, C. E.; CRUZ, F. F.; PEREIRA CDA, C.; FERRAZ, C. C.; FIGUEIREDO, J. A. Evaluation of chlorhexidine substantivity on human dentin: a chemical analysis. **J Endod**, v. 38, n. 9, p. 1249-52, 2012a.

SOUZA, S. F.; FRANCCI, C.; BOMBANA, A. C.; KENSHIMA, S.; BARROSO, L. P.; D'AGOSTINO, L. Z.; LOGUERCIO, A. D. Qualitative SEM/EDS analysis of microleakage and apical gap formation of adhesive root-filling materials. **J Appl Oral Sci**, v. 20, n. 3, p. 329-334, 2012b.

SPRINGER, SPRINGER, I. N.; NIEHOFF, P.; WARNKE, P. H.; BÖCEK, G.; KOVÁCS, G.; SUHR, M.; WILTFANG, J.; AÇIL, Y. Radiation caries--radiogenic destruction of dental collagen. **Oral Oncol**, v. 41, n. 7, p. 723-728, 2005.

STENSON, K. M.; POON, C. S. Overview of the diagnosis and staging of head and neck cancer. **UpToDate Wolters Kluwer**, 12, 2016.

STRUP-PERROT, C.; VOZENIN-BROTONS, M. C.; VANDAMME, M.; BENDERITTER, M.; MATHE, D. Expression and activation of MMP -2, -3, -9, -14 are induced in rat colon after abdominal X-irradiation. **Scand J Gastroenterol**, v. 41, n. 1, p. 60-70, 2006.

TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; LOUSHINE, R. J.; WELLER, R. N.; MONTICELLI, F.; OSORIO, R. Self-etching adhesives increase collagenolytic activity in radicular dentin. **J Endod**, v. 32, n. 9, p. 862-868, 2006.

TEIXEIRA, C. S.; ALFREDO, E.; THOMÉ, L. H.; GARIBA-SILVA, R.; SILVA-SOUSA, Y. T.; SOUSA-NETO, M. D. Adhesion of an endodontic sealer to dentin and guttapercha: shear and push-out bond strength measurements and SEM analysis. **J Appl Oral Sci**, v. 17, n. 2, p. 129-135, 2009.

TEZVERGIL-MUTLUAY, A.; MUTLUAY, M. M.; AGEE, K. A.; SESEOGULLARI-DIRIHAN, R.; HOSHIKA, T.; CADENARO, M.; BRESCHI, L.; VALLITTU, P.; TAY, F. R.; PASHLEY, D. H. Carbodiimide cross-linking inactivates soluble and matrix-bound MMPs, in vitro. **J Dent Res**, v. 91, n. 2, p. 192-6, 2012.

THIAGARAJAN, A.; IYER, N. G. Radiation-induced sarcomas of the head and neck. **World J Clin Oncol**, v. 5, n. 5, p. 973-981, 2014.

TIMKOVICH, R. Detection of the stable addition of carbodiimide to proteins. **Anal Biochem**, v. 79, n. 1-2, p. 135-143, 1977.

TONHI, E., PLEPIS, A. M. G. Preparation and characterization of collagen-chitosan blends. **Quím Nova**, v. 25, n. 1, p. 943-948, 2002.

UPADHYAYA, V.; BHARGAVA, A.; PARKASH, H.; CHUTTARANJAN, B.; KUMAR, V. A finite element study of teeth restored with post and core: Effect of design, material, and ferrule. **Dent Res J**, v. 13, n. 3, p. 233-238, 2016.

VALENTINO, T. A.; BORGES, G. A.; BORGES, L. H.; VISHAL, J.; MARTINS, L. R.; CORRER-SOBRINHO, L. Dual resin cement knoop hardness after different activation modes through dental ceramics. **Braz Dent J**, v. 21, n. 2, p. 104-110, 2010.

VELO, M. M. A. C.; FARHA, A. L. H.; DA SILVA SANTOS, P. S.; SHIOTA, A.; SANSAVINO, S. Z.; SOUZA, A. T.; HONÓRIO, H. M.; WANG, L. Radiotherapy alters the composition, structural and mechanical properties of root dentin in vitro. **Clin Oral Investig**, 2018. doi: 10.1007/s00784-018-2373-6. [Epub ahead of print]

VERSIANI, M. A.; PÉCORA, J. D.; SOUSA-NETO, M. D. Microcomputed tomography analysis of the root canal morphology of single-rooted mandibular canines. **Int Endod J**, v. 46, n. 9, p. 800-807, 2013.

VERSIANI, M. A.; SOUZA, E.; DE-DEUS, G. Critical appraisal of studies on dentinal radicular microcracks in endodontics: methodological issues, contemporary concepts, and future perspectives. **Endod Topics**, v. 33, n. 1, p. 87-156, 2015.

VIAPIANA, R.; GUERREIRO-TANOMARU, J.; TANOMARU-FILHO, M.; CAMILLERI, J. Interface of dentine to root canal sealers. **J Dent**, v. 5712, n. 13, p. 310-312, 2014.

VIER-PELISSER, F. V.; FIGUEIREDO, M. A.; CHERUBINI, K.; BRAGA FILHO, A.; FIGUEIREDO, J. A. The effect of head-fractioned teletherapy on pulp tissue. **Int Endod J**, v. 40, n. 11, p. 859-65, 2007.

VISSINK, A.; BURLAGE, F. R.; SPIJKERVET, F. K.; JANSMA, J.; COPPES, R. P. Prevention and treatment of the consequences of head and neck radiotherapy. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 14, n. 3, p. 213-225, 2003.

VOLTZKE, K. J.; LEE, Y. A.; ZHANG, Z. F.; ZEVALLOS, J. P.; YU, G. P.; WINN, D. M.; VAUGHAN, T. L.; STURGIS, E. M.; SMITH, E.; SCHWARTZ, S. M.; SCHANTZ, S.; MUSCAT, J.; MORGENSTERN, H.; MCCLEAN, M.; LI, G.; LAZARUS, P.; KELSEY, K.; GILLISON, M.; CHEN, C.; BOFFETTA, P.; HASHIBE, M.; OLSHAN, A. F. Racial differences in the relationship between tobacco, alcohol, and the risk of

head and neck cancer: pooled analysis of US studies in the INHANCE Consortium. **Cancer Causes Control**, 2018. doi: 10.1007/s10552-018-1026-z. [Epub ahead of print]

WANG, H. W.; CHANG, Y. H.; LIN, C. L. Mechanical resistance evaluation of a novel anatomical short glass fiber reinforced post in artificial endodontically treated premolar under rotational/lateral fracture fatigue testing. **Dent Mat J**, v. 35, n. 2, p. 233-240, 2016.

WANG, T. H.; LIU, C. J.; CHAO, T. F.; CHEN, T. J.; HU, Y. W. Risk factors for and the role of dental extractions in osteoradionecrosis of the jaws: A national-based cohort study. **Head Neck**, v. 39, n. 7, p. 1313-1321, 2017.

WANG, V. J.; CHEN, Y. M.; YIP, K. H.; SMALES, R. J.; MENG, Q. F.; CHEN, L. Effect of two fiber post types and two luting cement systems on regional post retention using the push-out test. **Dent Mater**, v. 24, n. 3, p. 372-377, 2008.

WU, MK.; R'ORIS, A.; BARKIS, D.; WESSELINK, P. R. Prevalence and extent of long oval canals in the apical third. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 89, n. 6, p. 739-743, 2000.

XU, C.; WANG, Y. Collagen cross linking increases its biodegradation resistance in wet dentin bonding. **J Adhes Dent**, v. 14, n. 1, p. 11-18, 2012.

YAMAUCHI M. Collagen biochemistry: an overview. In: Phillips GO, editor. Advances in tissue banking. **New Jersey: World Scientific**, v. 6, p. 455–500, 2000.

YAMIN, P. A.; PEREIRA, R. D.; LOPES, F. C.; QUEIROZ, A. M.; OLIVEIRA, H. F.; SAQUY, P. C.; SOUSA-NETO, M. D. Longevity of bond strength of resin cements to root dentine after radiation therapy. **Int Endod J**, 2018. doi: 10.1111/iej.12945. [Epub ahead of print].

ZAITTER, S.; SOUSA-NETO, M. D.; ROPERTO, R. C.; SILVA-SOUSA, Y. T.; EL-MOWAFY, O. Microtensile bond strength of glass fiber posts cemented with self-adhesive and self-etching resin cements. **J Adhes Dent**, v. 13, n. 1, p. 55-59, 2011.

ZANATTA, R. F.; BARRETO, B. D. E. C.; XAVIER, T. A.; VERSLUIS, A.; SOARES, C. J. Effect of punch and orifice base sizes in different push-out test setups: stress distribution analysis. **J Adhes Dent**, v. 17, n. 1, p. 45-50, 2015.

ZEEMAN, R.; DIJKSTRA, P. J.; VAN WACHEM, P. B.; VAN LUYN, M. J.; HENDRIKS, M.; CAHALAN, P. T.; FEIJEN, J. Successive epoxy and carbodiimide cross-linking of dermal sheep collagen. **Biomaterials**, v. 20, n. 10, p. 921-931, 1999.

ZHANG, K.; KIM, Y. K.; CADENARO, M.; BRYAN, T. E.; SIDOW, S. J.; LOUSHINE, R. J.; LING, J. Q.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R. Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin. **J Endod**, v. 36, n. 1, p. 105-109, 2010.

ZHANG, Z.; BEITZEL, D.; MAJD, H.; MUTLUAY, M.; TEZVERGIL-MUTLUAY, A.; TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; AROLA, D. Effect of carbodiimide on the fatigue crack growth resistance of resin-dentin bonds. **Dent Mater**, v. 32, n. 2, p. 211-222, 2016.

ZHOU, J.; YANG, X.; CHEN, L.; LIU, X.; MA, L.; TAN, J. Pre-treatment of radicular dentin by self-etch primer containing chlorhexidine can improve fiber post bond durability. **Dent Mater J**, v. 32, n. 2, p. 248-255, 2013.

Anexo

Anexo 1. Documento de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa. **PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: EFEITO DE SOLUÇÃO INDUTORA DE LIGAÇÕES CRUZADAS E SOLUÇÃO INIBIDORA DE METALOPROTEINASE NA LONGEVIDADE DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE PINO DE FIBRA DE VIDRO À DENTINA RADICULAR EM DENTES PREVIAMENTE SUBMETIDOS À RADIOTERAPIA

Pesquisador: Fabiane Carneiro Lopes

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 60934516.7.0000.5419

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.795.227

Apresentação do Projeto:

Os pesquisadores irão avaliar o efeito de solução indutora de ligações cruzadas (carbodiimida - EDC) e solução inibidora de metaloproteinase (clorexidina – CHX) em dentes previamente submetidos à radioterapia na longevidade da resistência de união (RU) de pino de fibra de vidro à dentina radicular, por meio do teste de push-out; além de avaliar a microdureza; e a interface adesiva, por diferentes métodos.

Objetivo da Pesquisa:

A hipótese do presente estudo é que a carbodiimida (indutora de ligações cruzadas) e a clorexidina (inibidora de metaloproteinase) sejam soluções capazes de aumentar a longevidade resistência de união e melhorar a qualidade da interface adesiva em dentina irradiada.

Objetivo Primário:

A proposta do presente estudo será avaliar a influência de solução indutora de ligações cruzadas (carbodiimida – EDC) e solução inibidora de metaloproteinase (clorexidina), em dentes previamente submetidos à radioterapia, sobre:

1. Longevidade da resistência de união de pino de fibra de vidro à dentina radicular, por meio do

Endereço: Avenida do Café s/nº

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-904

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3315-0493

Fax: (16)3315-4102

E-mail: cep@forp.usp.br

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO/ FORP/ USP

Continuação do Parecer: 1.795.227

teste de push-out;

2. Tipo de falha ocorrida após o teste de push-out;

3. Microdureza dentinária da região periférica à cimentação de pino de fibra de vidro por meio de aparelho de dureza Knoop;

4. Lacunas ou gaps da interface adesiva dentina radicular / cimento resinoso / pino de fibra de vidro por meio de microscopia confocal a laser;

5. Tags da interface adesiva dentina radicular / cimento resinoso / pino de fibra de vidro por meio de microscopia eletrônica de varredura;

6. Camada híbrida por meio de espectroscopia -Raman.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Estudo in vitro - dentes doados pelo Biobanco da FORP/USP

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está corretamente enquadrado na área temática e a metodologia proposta é adequada. Os antecedentes científicos justificam a execução da mesma. Possui cronograma de execução detalhado e todos os documentos estão anexados

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto está apresentado de forma correta, cumpre todas as normativas estabelecidas pelo CEP da FORP/USP e CONEP. Os pesquisadores são habilitados para execução do mesmo. Relevante para a área da saúde. Bem embasado cientificamente.

Recomendações:

Aprovado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberado na 197ª Reunião CEP/FORP/USP, realizada em 26/10/2016.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_804378.pdf	10/10/2016 08:18:07		Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rostoassinada.pdf	10/10/2016 08:17:22	Fabiane Carneiro Lopes	Aceito

Endereço: Avenida do Café s/nº

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-904

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3315-0493

Fax: (16)3315-4102

E-mail: cep@forp.usp.br

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO/ FORP/ USP

Continuação do Parecer: 1.795.227

Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	declaracao_cep_assinado.pdf	10/10/2016 08:10:50	Fabiane Carneiro Lopes	Aceito
Outros	termo_comp_citacao_assinado.pdf	10/10/2016 08:09:54	Fabiane Carneiro Lopes	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	auto_infra_assinado.pdf	10/10/2016 08:08:01	Fabiane Carneiro Lopes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ausencia_tcle_assinado.pdf	10/10/2016 08:07:18	Fabiane Carneiro Lopes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CEP_Fabiane.docx	04/10/2016 10:47:19	Fabiane Carneiro Lopes	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 27 de Outubro de 2016

Assinado por:
Simone Cecilio Hallak Regalo
(Coordenador)

Endereço: Avenida do Café s/nº

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-904

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3315-0493

Fax: (16)3315-4102

E-mail: cep@forp.usp.br

Apêndices

Apêndice I. Dados relativos à avaliação inicial da resistência de união ao cisalhamento por extrusão de cimento resinoso à dentina radicular (MPa).

Tratamento da dentina										x̄t ± DP total
Soro fisiológico			Clorexidina			EDC				
Terço radicular			Terço radicular			Terço radicular				
Cervical	Médio	Apical	Cervical	Médio	Apical	Cervical	Médio	Apical		
Não irradiado	21,79	21,74	16,05	18,36	21,99	16,03	23,76	15,22	17,61	19,54±4,13
	17,06	19,04	18,42	20,96	12,90	15,26	21,01	20,83	15,76	
	23,72	20,58	16,79	20,90	22,62	21,37	22,56	23,17	13,24	
	22,53	14,48	11,56	21,97	25,56	12,80	24,63	31,77	21,76	
	19,83	21,59	20,22	15,26	17,16	17,04	26,82	17,04	21,30	
	24,81	21,81	18,57	22,01	19,91	17,74	15,56	23,99	14,59	
	14,42	14,34	18,24	26,75	22,19	9,99	26,00	23,14	18,50	
	22,14	15,80	18,64	21,68	23,62	18,61	20,47	17,26	22,72	
	24,87	19,02	12,29	21,04	21,47	19,67	24,90	19,24	20,23	
	19,40	25,69	7,92	19,81	18,63	13,68	22,36	18,13	14,67	
x̄ ± DP	21,06±3,40	19,41±3,65	15,87±3,96	20,87±2,92	20,61±3,63	16,22±3,42	22,81±3,27	20,98±4,81	18,04±3,38	
Irradiado	20,51	10,74	10,65	21,54	10,30	7,86	17,39	22,26	15,86	15,28±5,10
	17,86	14,47	8,84	16,03	9,91	7,58	25,62	25,32	16,16	
	18,14	13,72	10,17	17,27	14,47	14,12	23,99	18,07	14,49	
	13,17	13,54	7,25	15,83	14,61	8,61	21,29	18,71	17,49	
	20,82	14,43	12,34	18,99	12,83	6,00	23,18	17,68	24,42	
	15,52	11,29	6,66	19,10	12,95	11,66	20,41	20,96	16,68	
	17,93	13,69	8,36	16,60	13,87	10,69	22,66	24,47	14,96	
	10,77	12,43	2,37	16,78	13,26	11,42	23,07	21,84	14,45	
	19,69	11,23	9,85	19,02	13,44	7,20	21,47	19,96	15,99	
	20,26	9,75	8,41	21,03	12,96	8,32	17,41	15,64	14,07	
x̄t ± DP	17,47±3,35	12,53±1,68	8,49±2,72	18,22±2,03	12,86±1,58	9,35±2,52	21,65±2,67	20,49±3,08	16,46±3,00	
x̄t ± DP total	15,80±5,26			16,35±4,96			20,07±3,95			

Apêndice II. Dados relativos à avaliação da longevidade da resistência de união ao cisalhamento por extrusão de cimento resinoso à dentina radicular (MPa).

Tratamento da dentina										x̄t ± DP total
Soro fisiológico			Clorexidina			EDC				
Terço radicular			Terço radicular			Terço radicular				
Cervical	Médio	Apical	Cervical	Médio	Apical	Cervical	Médio	Apical		
Não irradiado	11,86	12,39	9,18	20,83	17,38	12,13	23,65	20,61	20,61	16,62±4,33
	17,26	14,64	13,84	20,49	20,93	11,25	22,61	18,89	14,19	
	14,28	16,10	12,13	20,74	18,41	18,43	22,99	18,66	21,10	
	16,26	12,41	9,32	21,13	16,72	12,62	23,89	27,65	19,31	
	18,48	14,12	10,53	17,43	17,50	18,37	23,92	20,12	18,37	
	12,09	17,80	10,68	16,62	21,72	10,58	24,33	18,76	13,55	
	15,38	11,49	12,07	14,28	14,96	12,09	23,25	19,49	17,10	
	16,64	15,07	7,45	23,17	20,44	17,17	21,50	20,61	15,35	
	18,93	11,09	6,83	17,05	12,06	18,46	14,45	17,76	16,24	
	18,25	15,81	8,70	16,74	12,65	10,08	19,37	18,61	15,64	
x̄ ± DP	15,94±2,53	14,09±2,20	10,07±2,20	18,85±2,78	17,28±3,31	14,12±3,53	21,99±3,03	20,12±2,81	17,14±2,62	
Irradiado	10,96	7,41	2,31	9,10	9,53	7,37	24,05	24,94	15,72	12,40±5,15
	9,68	7,41	9,25	9,31	4,89	7,46	24,62	17,39	20,19	
	4,67	4,17	3,54	13,10	14,29	4,09	16,85	14,35	14,23	
	12,76	8,36	6,22	16,49	12,28	11,91	18,08	18,14	10,08	
	11,98	7,99	3,86	13,22	9,06	11,43	22,24	17,85	14,30	
	6,91	9,81	8,23	13,06	9,58	8,86	20,17	20,62	16,39	
	12,46	7,42	7,97	12,35	12,91	10,02	17,65	15,45	13,47	
	11,91	10,60	4,61	16,29	14,96	11,15	18,37	20,62	16,77	
	11,13	9,60	6,24	13,12	8,54	10,15	21,17	15,71	14,63	
	13,27	7,15	5,94	16,70	11,71	16,83	17,37	16,19	14,83	
x̄t ± DP	10,57±2,77	7,99±1,80	5,82±2,24	13,27±2,69	10,78±3,04	9,93±3,39	20,06±2,85	18,13±3,17	15,06±2,59	
x̄t ± DP total		10,75±4,10		14,04±4,41		18,75±3,55				