

Efeito do tratamento endodôntico e da radiação gama do Cobalto-60 na resistência flexural e dureza da dentina radicular humana e bovina.

CARLLA MARTINS GUIMARÃES¹, LUÍS HENRIQUE ARAÚJO RAPOSO²,
VERIDIANA RESENDE NOVAIS³, PAULO SÉRGIO QUAGLIATTO⁴, CARLOS JOSÉ
SOARES⁴

1. Acadêmica do Curso de Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia.
Bolsista do Programa de Iniciação Científica do CNPq 2008-2009 – D-032/2008

2. Mestrando do Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica Integrada da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia

3. Professora Mestre da Área de Dentística e Materiais Odontológicos da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia.

4. Professor Doutor Adjunto da Área de Dentística e Materiais Odontológicos da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia. Av. Pará, 1720, Bloco 2B, Sala 24, Campus Umuarama, Cep: 38.400-000 Uberlândia, MG. E-mail: carlosjsoares@umuarama.ufu.br

RESUMO

Este estudo avaliou o efeito do tratamento endodôntico e da radiação gama do Cobalto-60 na resistência flexural e dureza de dentina radicular humana e bovina. Quarenta dentes humanos unirradiculares (H) e quarenta incisivos bovinos (B) foram coletados, armazenados em solução aquosa tamponada de timol 0,2%, limpos e armazenados em água destilada a 4°C. Os dentes foram seccionados permanecendo raiz de 15mm e então divididos aleatoriamente, para cada substrato, em 4 grupos (n= 10): NtNi- não tratados e não irradiados; TNi- tratado endodonticamente e não irradiado; NtI- não tratado endodonticamente e irradiado; TI- tratado endodonticamente e irradiado. O protocolo de irradiação utilizado foi de 60 Gy de radiação gama do Cobalto 60 (⁶⁰Co), fracionado em 2 Gy diários durante 5 dias da semana. Foi realizada secção no sentido do longo eixo de cada raiz gerando duas fatias, uma para confecção das amostras para o ensaio mecânico de resistência flexural de 3 pontos e a outra na confecção das amostras para o teste de dureza Knoop. Os dados foram submetidos à análise de variância e em seguida foi aplicado teste de Tukey com nível de significância de $\alpha=0,05$. Os resultados de resistência flexural foram (MPa): NtNiH-1982,6±425,3Aa, TNiH-1582,5±534,3Aa, NtIH-1574,18±1105,9Aa, TIH- 1357,9±491,1Aa, NtNiB-1679,7±511,8Aa, TNiB-1454,3±419,7Aa, NtIB-1233,88±473,0Aa, TIB-1459,92±509,5Aa. Os resultados para o teste de microdureza foram: NtNiH-47,99±11,21Ba, TNiH-53,35±7,86Aa, NtIH-50,17±9,99Aa, TIH-43,11±9,30Ba, NtNiB-38,66±18,56Ab, TNiB-42,69±6,88Ab, NtIB-34,64±10,98Bb, TIB-31,71±13,06Bb. O protocolo radioterápico produziu efeitos deletérios na microdureza dos dois substratos dentinários avaliados e a associação do protocolo radioterápico com o tratamento endodôntico promoveu redução na microdureza desses substratos.

Palavras-chave: Radioterapia, Tratamento endodôntico, Propriedades mecânicas, Resistência flexural, Microdureza.

Effect of Cobalt-60 gamma radiation on the flexural strength and microhardness of the human and bovine root dentine.

ABSTRACT

This study evaluated the effect of the endodontic therapy and Cobalt-60 gamma radiation on the flexural resistance and microhardness of the human and bovine root dentine. Forty human (H) single-rooted teeth and forty bovine (B) incisors were collected and stored in 0.2% thymol solution. The teeth were cleaned and stored into distilled water at a 4° C temperature. The teeth of both species were sectioned into 15.0mm roots and were divided into 4 groups for each substrate (n=10): NtNi- without endodontic therapy\without irradiation; TNi- endodontic therapy\without irradiation; NtI- without endodontic therapy\irradiated; TI- endodontic therapy\irradiated. The radiotherapy protocol consisted of 60Gy of Cobalt-60 (⁶⁰Co) gamma radiation fractioned into 2Gy daily, five days per week. A longitudinal cut was done in each specimen, generating two slices per root. One of these slices was used to make the samples for the three-point bending test and the other to make the samples of the Knoop hardness test. The data collected were submitted to analysis of variance (ANOVA) and Tukey test ($\alpha=0.05$). The results for the flexural strength test were (MPa): NtNiH-1982..6±425..3Aa. TNiH-1582..5±534..3Aa. NtIH-1574..18±1105..9Aa. TIH- 1357..9±491..1Aa. NtNiB-1679..7±511..8Aa. TNiB-1454..3±419..7Aa. NtIB-1233..88±473..0Aa. TIB-1459.92±509.5Aa. The results for the Knoop hardness test were: NtNiH-47.99±11.21Ba. TNiH-53.35±7.86Aa. NtIH-50.17±9.99Aa. TIH-43.11±9.30Ba. NtNiB-38.66±18.56Ab. TNiB-42.69±6.88Ab. NtIB-34.64±10.98Bb. TIB-31.71±13.06Bb. This study showed that the radiotherapy produced deleterious effects in the microhardness of both substrates, and that the association between this radiotherapy protocol and the endodontic therapy reduced the microhardness of these two substrates as well.

Key-words: Radiotherapy, Endodontic therapy, Mechanical properties, Flexural strength, Microhardness.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos têm-se buscado ampliar cada vez mais o tempo e a qualidade de vida de pacientes acometidos por tumores de cabeça e pescoço por meio de intervenções terapêuticas como a radioterapia, quimioterapia e a cirurgia de cabeça e pescoço. Dentre estas modalidades, a radioterapia é um método bem estabelecido e está indicado, idealmente, por sua propriedade de destruição de células neoplásicas, preservando células normais (Peterson et al., 2000). Porém, na prática esse princípio nem sempre é alcançado, havendo efeitos indesejáveis aos tecidos normais (Barcellos-Hoff et al., 2000). Quanto mais rápido for o metabolismo celular, mais susceptível será o tecido aos efeitos prejudiciais da radiação (Peterson et al., 2000). Segundo Medeiros et al. (2002), as complicações decorrentes do tratamento radioterápico variam de acordo com a idade do paciente, dose e localização de entrada da radiação ionizante.

A radioterapia quando aplicada em neoplasias malignas de cabeça e pescoço tem efeitos diretos na cavidade oral, pois complicações estão relacionadas a fatores de risco bucal, como doença periodontal, lesões periapicais, raízes residuais, dentes parcialmente irrompidos, cárie extensa e extrações dentárias (Medeiros et al., 2002).

As manifestações ou complicações mais frequentemente descritas são mucosites, candidíase, xerostomia, cárie radio-induzida, disgeusia, perda do paladar, trismo muscular, alterações vasculares e osteorradionecrose (Pistoia et al., 2004). É conhecido que a formação de radicais livres, oriundas de reações com as moléculas de água, figura como o processo inicial de danos adicionais da radiação, em particular dos materiais orgânicos (Baker, 1982). Assim, a integridade e as propriedades mecânicas das estruturas dentárias podem ser afetadas quando da utilização da radioterapia (Al-Nawas et al., 2000). Soares et al. (2009) verificaram que a radioterapia reduz significativamente a resistência intrínseca do esmalte e da dentina com efeito mais danoso nos componentes protéicos que na porção mineral da dentina.

Danos severos provocados pela radiação Cobalto-60 nos componentes orgânicos da dentina, matriz de colágeno, processos odontoblásticos, e conseqüentemente na polpa devem ser considerados (Pioch et al., 1991). Usando microscopia confocal, Pioch et al., 1991, demonstrou retração dos processos odontoblásticos depois da radiação *in vivo* como sendo o único dano histomorfológico em relação à modificação nas propriedades da dentina após a radiação. Porém esta afirmação é altamente questionável frente

ao nível de dano causado na dentina coronária e radicular (Soares, et al; 2009). Análise por microscopia eletrônica de varredura tem mostrado alterações denominadas de plastificação da dentina e esmalte e aumento na presença de trincas na dentina, principalmente na dentina peritubular (Soares et al., 2009)

A busca pela manutenção e preservação da vitalidade pulpar deveria ser condição primordial na manutenção da saúde bucal, porém os altos índices de cáries, traumas e intervenções iatrogênicas levam à instalação de processos degenerativos da polpa. Ao longo dos anos a odontologia evoluiu significativamente e novas formas conservadoras de tratamento foram desenvolvidas. Com a introdução e avanço da terapia endodôntica, tornou-se possível a recuperação e preservação de dentes extensamente comprometidos na cavidade oral, os quais, outrora eram freqüentemente indicados para extração (Raposo et al., 2008).

O desenvolvimento e presença de alterações pulpares e periapicais ocorrem principalmente devido à presença de microrganismos no interior do sistema de canais radiculares, podendo este abrigar diversas espécies de bactérias, assim como, suas toxinas e seus subprodutos (Safavi et al., 1990; Seltzer & Farber, 1994; Torabinejad et al., 2002). Como as células de defesa do hospedeiro não conseguem

chegar a estas bactérias no interior do sistema de canais radiculares, o tratamento das infecções endodônticas deve ser realizado por meio de procedimentos mecânicos (Takahashi, 1998). Entretanto, devido à complexidade da morfologia anatômica do sistema de canais radiculares, mesmo após metucioso preparo mecânico, resíduos orgânicos e bactérias localizadas no interior dos túbulos dentinários não são alcançados (Biffi & Rodrigues, 1989; Torabinejad et al., 2002). Desta forma, utiliza-se em associação ao procedimento mecânico, irrigação endodôntica, que atualmente é o método mais eficaz para remoção de tecidos remanescentes e “*debris*” de dentina, proporcionando lubrificação durante a instrumentação, destruição dos microrganismos e dissolução do tecido necrótico (Ari & Erdemir, 2005). Além da remoção de todo conteúdo séptico do sistema de canais radiculares por meio da instrumentação e irrigação, é condição básica para o sucesso do tratamento endodôntico, a obturação que vise o vedamento do sistema de canais com material possuidor de propriedades físicas adequadas e que seja biocompatível, evitando agressões aos tecidos periapicais.

Apesar do sucesso na preservação do elemento dental na cavidade oral por meio da terapia endodôntica, fatores vinculados a este processo alteram as

propriedades mecânicas da estrutura remanescente (Soares et al., 2008). Dentes tratados endodonticamente são mais susceptíveis a falhas, o que pode tornar sua extração necessária em casos de fraturas catastróficas (Driscoll et al., 2002). Além da perda da integridade estrutural devido à cárie, ao acesso endodôntico e a instrumentação mecânica, fatores adicionais predispoem estes dentes à fratura (Blaser et al., 1938; Hood et al., 1991; Soares et al., 2008). Alterações nas propriedades mecânicas da dentina devido à ação das soluções irrigantes, dos medicamentos, ou mesmo dos materiais de preenchimento do canal radicular foram identificadas como predisponentes da fragilidade desses dentes à fratura (Biven et al., 1972; Doyon et al., 2005; Soares et al., 2008). Além disso, no tratamento endodôntico o elemento dental acaba por ser fragilizado devido à remoção da polpa dental e a diminuição do conteúdo mineral. Regiões de tecido mineralizado são desgastadas durante a remoção do tecido cariado e abertura de acesso, além do desgaste estrutural que ocorre no interior do canal radicular durante o processo de instrumentação. A perda estrutural associada com procedimentos restauradores tem sido aceita como o principal motivo para a maior susceptibilidade à fratura de alguns dentes (Reeh et al., 1989; Panitvisai & Messer,

1999). Fatores mecânicos como a condensação da guta-percha no interior do canal (Versluis et al., 2006) e a geração de calor podem contribuir para esta redução na resistência.

A dentina é caracterizada como um tecido altamente mineralizado que constitui o maior volume do órgão dental (Marshall, 1993). É formada em sua maior parte por cristais de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) e por outra porção orgânica de fibrilas de colágeno (Marshall, 1993). Este composto hidratado contém túbulos preenchidos por fluido e é capaz de resistir à fratura devido à orientação das fibrilas colágenas ser contrária à dos túbulos dentinários, exibindo assim um comportamento que limita a propagação de trincas (Renson et al., 1974; Soares et al., 2009). Pashley (1990) sugeriu que os túbulos dentinários preenchidos por fluido poderiam atuar hidraulicamente na transferência e dissipação de tensões geradas por forças oclusais. Do ponto de vista dos princípios mecânicos, a estabilidade estrutural da dentina ocorre em função de sua mineralização e do teor de umidade da mesma (Kinney et al., 1993, 1999) e pela organização geométrica e estrutural que determina propriedade ortotrópica ou até mesmo anisotrópica a este substrato (Giannini et al., 2004; Soares et al., 2009). Em uma perspectiva clínica, é bem estabelecido que os dentes ficam

mais susceptíveis à fratura se suas polpas forem removidas (Meister et al., 1980; Gher et al., 1987), pois ocorre redução em seu conteúdo úmido (Helfer et al., 1972). Assim, pacientes que necessitam de tratamento radioterápico e que apresentam dentes com tratamento endodôntico podem apresentar alterações em sua estrutura dental e ter conseqüências negativas em sua saúde bucal.

Recentemente, têm-se encontrado dificuldade na obtenção de dentes humanos extraídos, devido ao progresso atual do tratamento dental conservador, a evolução dos materiais dentários e menor incidência da necessidade de extrações se comparado ao passado, o que dificulta a utilização destes em pesquisas (Nakamichi et al., 1983). Fonseca et al. (2004), relataram que as características dos tecidos duros do dente são os principais fatores na análise das possibilidades de substituição do uso de dentes humanos por dentes de animais em pesquisas *in vitro*. Quanto mais se assimilar o dente do animal ao dente humano, maior validade e significância terão os resultados de qualquer pesquisa (Fonseca et al., 2004; Reis et al.; 2004). Introduções prévias de pesquisas anatômicas e histoquímicas têm revelado que dentes de mamíferos são essencialmente similares (Leicester et al., 1949; Fujita et al., 1957; Suga et al., 1971).

Incisivos centrais bovinos têm

sido empregados como substitutos aos dentes humanos em ensaios mecânicos, testes de adesão (Santana et al., 2008), microinfiltração, estudos para identificação de características morfológicas (Fonseca et al., 2004) e resistência a fratura (Santos Filho et al., 2008). Segundo Schilke et al. (2000), a dentina humana e bovina tem número e diâmetro de túbulos dentinários similares na porção coronária. Entretanto, a média de diâmetro dos túbulos em dentina bovina, especialmente na raiz é maior do que em dentina humana (Schilke et al., 2000). Além da semelhança com os dentes humanos, os dentes bovinos são usados por apresentarem facilidade de coleta, possibilidade de padronização da maturação do tecido dentário, além de menor risco de transmitir doenças infecciosas (Slutzky-Goldberg et al., 2004; Okino et al. 2004; Santos et al., 2006).

Diante das alterações que podem ocorrer tanto em dentes irradiados quanto em dentes tratados endodonticamente, parece pertinente avaliar o efeito da radiação gama do Cobalto-60 e do tratamento endodôntico na resistência à flexão e dureza da dentina radicular humana e bovina. Também é importante analisar se existe diferença significativa nas propriedades de dentes humanos e bovinos, validando assim o uso deste com alternativos aos dentes humanos. Desta

forma, quatro hipóteses foram geradas neste estudo, a primeira, que a radiação gama do Cobalto-60 altera as propriedades mecânicas da dentina radicular humana; a segunda, que o tratamento endodôntico influencia negativamente na resistência flexural e dureza da dentina radicular humana; a terceira, que existe potencialização dos efeitos deletérios sobre a dentina radicular humana diante da associação da radioterapia e do tratamento endodôntico; e a quarta, que a dentina radicular humana e bovina, se comportam de forma similar frente a esses tratamentos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Quarenta dentes humanos unirradulares hígidos, com indicação para exodontia, foram selecionados para este estudo a partir de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Uberlândia (538/07). Também foram selecionados 40 incisivos centrais bovinos, de animais adultos, com tamanho, idade e formato semelhantes, extraídos em frigorífico de Uberlândia com avaliação sanitária do Ministério da Saúde e consentimento do médico veterinário responsável. Os dentes foram armazenados separadamente em solução aquosa tamponada de timol 0,2% (Pharmacia Biopharma Ltda., Uberlândia, Brasil) e posteriormente foram limpos com

curetas periodontais e submetidos à profilaxia com pedra pomes e água, sendo então, armazenados em água destilada a 4°C. Com o auxílio de disco diamantado de dupla face (#7020, KG Sorensen, Barueri, SP), os dentes foram seccionados sob jato de água constante (Figura 1), obtendo remanescente radicular de 15,0mm.

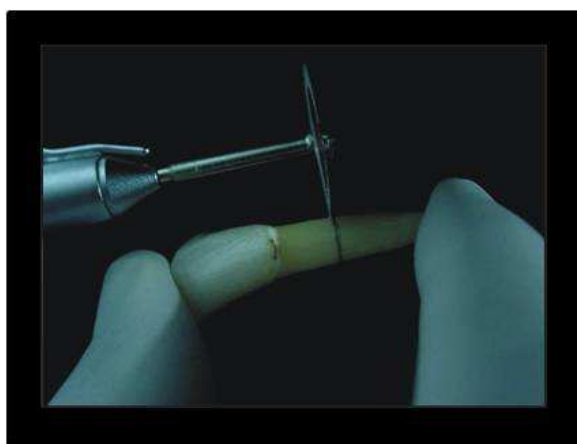


Figura 1: Secção dos dentes

Os dentes selecionados foram então divididos aleatoriamente em 4 grupos (n=10) para cada tipo de substrato: NtNi- não tratados endodonticamente e não irradiados; TNi- tratados endodonticamente e não irradiados; NtI- não tratados endodonticamente e irradiados; TI- tratados endodonticamente e irradiados.

Para as raízes pertencentes aos grupos Nt (sem tratamento endodôntico) foi realizada apenas remoção do tecido pulpar seguido da irrigação com água destilada. Já para as raízes pertencentes aos grupos T (com tratamento endodôntico) foi realizada a instrumentação do canal

radicular com limas endodônticas (Maillefer Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil), e irrigação com solução de digluconato de clorexidina a 2,0% (Biopharma, Uberlândia, Brasil), até que o instrumento de n.40, para os dentes humanos, e de n.80, para os dentes bovinos, alcançasse o forame apical, com visão direta no ápice (Queiroz et al., 2007).

Após a instrumentação, foi realizada irrigação do canal com solução salina 0,9% (Industria Farmacêutica Basa, Caxias do Sul, RS, Brasil). A obturação do canal radicular foi realizada utilizando a técnica de condensação lateral com cones de gutta-percha (Maillefer, Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) e cimento endodôntico a base de hidróxido de cálcio (Sealer 26, Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) (Menezes, 2006).

Posteriormente, os acessos endodônticos foram restaurados com cimento de ionômero de vidro (Vidrion R, SS White, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil)

Após obturação dos canais radiculares, as raízes dos grupos irradiados foram fixadas em placa acrílica com adesivo a base de cianoacrilato (Super Bonder, Loctite, Itapevi, SP, Brasil) e godiva de baixa fusão (DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Os espécimes pertencentes aos grupos irradiados foram imersos em água destilada e submetidos a

60 Gy de radiação gama do Cobalto-60 (^{60}Co), fracionada em 2 Gy diários, 5 dias da semana. Protocolo semelhante ao realizado em pacientes com tumor de cabeça e pescoço. Esse procedimento foi realizado em ambiente hospitalar especializado (Hospital do Câncer de Uberlândia - Universidade Federal de Uberlândia), com equipamento de telecobaltoterapia (Theratron Phoenix Cobalt-60 Radiotherapy Treatment Unit; Theratronics Internacional Ltd. Atomia Energy of Canada, Ltd., Ontário, Canadá)(Figura 2).



Figura 2: Irradiação das amostras com Gama Cobalto- 60, 2Gy/dia.

Nesta unidade, a radiação é produzida por meio de fonte de material

radioativo alojada na extremidade do braço do aparelho, contida dentro de uma cápsula de aço inoxidável. A cápsula é revestida de chumbo e urânio para evitar a emissão de radiação em todas as direções. Para o uso no tratamento radioterápico, o mecanismo de controle da fonte permite que se utilize o feixe de radiação na intensidade e locais desejados.

Para realização dos ensaios mecânicos, as raízes foram seccionadas no sentido de seu longo eixo utilizando disco diamantado de dupla face (Diamond Disk, Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA) montado em cortadeira de precisão (Isomet 1000, Buehler), com velocidade de corte padronizada em 200RPM, obtendo duas fatias por raiz (Figura 3).



Figura 3: Amostras seccionadas.

Uma das fatias foi empregada no ensaio mecânico de resistência flexural de 3 pontos e a outra no teste de microdureza Knoop. Os ensaios foram realizados imediatamente após a obtenção das

amostras referentes a cada grupo experimental. Para os grupos TI e NtI, as amostras foram armazenadas individualmente em frascos plásticos com água destilada na temperatura de 37°C no período de intervalo entre os tratamentos.

Ensaio de Resistência Flexural:

Os espécimes para o ensaio mecânico de resistência flexural foram padronizados de acordo com os parâmetros definidos pela ISO 178 (International Organization for Standardization EN ISO178, 2003). O preparo das amostras foi realizado seccionando-se uma das fatias da raiz no sentido longitudinal por meio de dois cortes, resultando em uma fatia com 1,0 ±0,1mm de espessura. Esta fatia foi então seccionada por meio de dois cortes laterais, obtendo-se barra de dentina radicular com 1,0 x 2,0mm e comprimento de 15,0mm. Em seguida, foram realizados dois cortes perpendiculares nas extremidades das barras, priorizando a porção regular e central da raiz, para obtenção de amostras com dimensões de 1,0 x 2,0 x 12,0mm. Os espécimes foram utilizados no teste de resistência flexural de 3 pontos, usando dispositivos acoplados à máquina de ensaio mecânico (EMIC DL 2000, São José dos Pinhais, PR, Brasil). Cada barra foi posicionada no dispositivo e submetida a carregamento axial com velocidade de 0,5 mm/min até fratura. A força máxima

exigida na falha do espécime foi obtida em N (Fmáx.) e a deformação do mesmo em mm (D) (Figura 4). Todas as barras de dentina foram mantidas úmidas durante a realização do teste por meio de aplicação de spray de água destilada.

A resistência flexural foi calculada pela fórmula: $\sigma_f = \frac{3FL}{2bh^2}$ onde σ_f é o valor da resistência flexural, F é a força máxima aplicada em Newton, L é a distância entre os pontos de apoio (10,0mm), b é a largura e h é a espessura em mm da barra. Os dados foram submetidas ao teste de normalidade. Posteriormente foi aplicada análise de variância seguida do teste de Tukey com nível de significância de $\alpha=0,05$.



Figura 4: Teste de resistência Flexural de três pontos.

Teste de Microdureza Knoop:

Para realização do teste de microdureza, três espécimes foram confeccionados a partir da segunda metade

da raiz. Foram realizados dois cortes axiais nas extremidades das raízes, resultando em três partes referentes ao terço cervical, médio e apical da raiz.

Os espécimes foram incluídos em resina de poliestireno (AM 190 Resin, AeroJet, Santo Amaro, SP, Brasil) em cilindros de PVC, de forma que o longo eixo do cilindro ficasse perpendicular à superfície (Figura 5



Figura 5: Inclusão das amostras.

As amostras foram então lixadas com série de discos de carbeto de silício (#600, 800, 1200, 1500; Norton, SP, Brasil) seguido de polimento com panos e pastas diamantadas para polimento metalográfico de granulação seqüencial de 6 μm , 3 μm , 1 μm , $\frac{1}{4}$ μm (Arotec, São Paulo, SP, Brasil), gerando superfície lisa, polida e uniforme. Em seguida as amostras foram limpas em unidade ultrassônica com água destilada por 30 minutos.

A microdureza foi então testada com o uso de edentador Knoop com peso de 50g durante 15 segundos (Habelitz *et al*,

2001) (Figura 6) . Os resultados das três medições feitas em cada regiões foram tabulados e submetidos à análise de variância e teste de Tukey com nível de significância de $\alpha=0,05$.



Figura 6: Ensaio de Microdureza.

Os dados apresentaram requisitos que possibilitaram o emprego de análise paramétrica e então foi empregada análise de variância fatorial ($2 \times 2 \times 2$), em nível de 5% de probabilidade ($\alpha=0,05$). Como foi observada diferença entre os grupos, foi empregado teste de comparação de médias - teste de Tukey Honestly Significant Difference-HSD para definir entre quais grupos ocorreram diferenças significantes.

Para o parâmetro resistência flexural, não houve diferenças significantes para os fatores isolados e para as interações entre os fatores (Tabela 1).

RESULTADOS

Tabela 1. Valores médios de resistência flexural - MPa (desvio padrão) de dentes humanos e bovinos, tratados ou não endodonticamente e irradiados ou não por radiação gama do Cobalto-60.

Substrato	Irradiado		Não Irradiado	
	T	NT	T	NT
<i>Humano</i>	1357,9 (491,1) ^{Aa}	1574,18 (1105,9) ^{Aa}	1582,5 (534,3) ^{Aa}	1982,6 (425,3) ^{Aa}
<i>Bovino</i>	1459,92(509,5) ^{Aa}	1233,88 (473,0) ^{Aa}	1454,3 (419,7) ^{Aa}	1679,7 (511,8) ^{Aa}

Letras maiúsculas fazem referência à análise na horizontal para dentes Irrradiados e Não Irradiados, e as letras minúsculas se referem à análise na vertical para os substratos humanos e bovinos. ($p < 0,05$).

Para os valores de microdureza, houve significância para o fator tipo de substrato e irradiação, sendo que os espécimes de dentes bovinos apresentaram menor dureza Knoop que os dentes

humanos independente das condições de irradiação e do tratamento endodôntico. Não houve diferenças significativas para os dentes que receberam tratamento endodôntico e os não tratados

endodonticamente (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Valores médios de microdureza e desvio padrão (\pm) dos dentes tratados endodonticamente em função do tipo de dentes e da irradiação gama do Cobalto-60.

	Irradiado	Não Irradiado
<i>Humano</i>	43,11 (9,30) Ba	53,35 (7,86) Aa
<i>Bovino</i>	31,71 (13,06) Bb	42,69 (6,88) Ab

*Letras maiúsculas fazem referência à análise na horizontal para fator irradiação, e as letras minúsculas se referem à análise na vertical para os substratos humanos e bovinos ($p < 0,05$).

Tabela 3. Valores médios de microdureza e desvio padrão (\pm) dos dentes não tratados endodonticamente em função do tipo de dentes e da irradiação gama do Cobalto-60.

	Irradiado	Não Irradiado
<i>Humano</i>	50,17 (9,99) Aa	47,99 (11,21) Ba
<i>Bovino</i>	34,64 (10,98) Bb	38,66 (18,56) Ab

*Letras maiúsculas fazem referência à análise na horizontal para fator irradiação, e as letras minúsculas se referem à análise na vertical para os substratos humanos e bovinos ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

A dentina é o tecido mineralizado mais abundante no dente humano, portanto, o conhecimento de suas propriedades mecânicas é essencial para prever os efeitos das alterações microestruturais e suas consequências clínicas (Kinney et al., 2003; Giannini et al., 2004). Neste estudo, foram avaliadas duas propriedades mecânicas da dentina humana e bovina com a intenção de avaliar se estas propriedades são alteradas por procedimentos terapêuticos. Pois, pacientes com necessidade de tratamento radioterápico e que apresentem dentes com

tratamento endodôntico podem apresentar tais alterações, com consequências diretas na saúde bucal. Também validar para experimentos *in vitro* o uso do modelo de dentes bovinos como substituto aos dentes humanos nos ensaios de propriedades mecânica do substrato dentinário.

Dentre as hipóteses geradas neste estudo, a primeira foi aceita, a radiação gama do Cobalto-60 altera as propriedades mecânicas da dentina humana; a segunda foi negada, o tratamento endodôntico não influenciou negativamente na resistência flexural e dureza da dentina humana, a terceira hipótese foi aceita já que houve potencialização dos efeitos deletérios sobre

a dentina radicular humana diante da associação da radioterapia e do tratamento endodôntico; e a quarta hipótese, de que as dentinas radiculares humanas e bovinas se comportariam de forma similar frente a esses tratamentos foi parcialmente aceita.

A resistência flexural da dentina humana e bovina, não foi alterada pelo tratamento endodôntico e protocolo de irradiação empregado neste estudo. Entretanto, no teste de microdureza foram observadas alterações na dentina radicular humana e bovina, com redução dos valores de microdureza Knoop para os dentes que receberam radiação gama do Cobalto-60. A associação do tratamento endodôntico e protocolo radioterápico potencializou esta redução nos valores de microdureza. Demonstrando que o tratamento endodôntico isoladamente não altera a microdureza, porém quando associado ao uso da radioterapia pode sim alterar mais significativamente esta propriedade

A dentina caracteriza-se por ser um complexo hidratado com presença de túbulos dentinários, circunscritos por tecido altamente mineralizado, chamado de dentina peritubular (Marshall et al., 1993). Entre cada túbulo e a dentina peritubular adjacente, está presente uma zona de matriz intertubular formada por fibrilas colágenas do Tipo I associada com cristais de hidroxiapatita e fluído dentinário presente no interior dos túbulos (Marshall

et al., 1993). Kinney (1996) demonstrou que a diminuição da dureza na dentina em função da profundidade dentinária é causada por uma queda na rigidez da matriz de dentina intertubular devido a distribuição heterogênea da fase mineral da matriz de colágeno. Segundo Pashley (1985), a diminuição da microdureza dentinária estaria associada com o aumento do número de túbulos dentinários, porém Kinney (1996), afirmou que a diminuição da matriz mineralizada de dentina intertubular figura como o principal fator que afeta a microdureza da dentina.

Estudos demonstraram que o conteúdo mineral da dentina é fator importante determinante na avaliação da microdureza, enquanto que o conteúdo orgânico está mais relacionado com a resistência, não afetando significativamente a dureza do tecido (Angker et al., 2004). Em seus estudos, Sarkaria (2008) e Chistiakov, 2008, demonstraram que a radiação ionizante pode provocar lesões teciduais por dois mecanismos básicos, sendo um direto e o outro indireto. No mecanismo direto, a radiação gera perda elétrica, tanto como ganho de elétrons por meio da ejeção de elétrons e da captura de elétrons ejetados, respectivamente. Já o mecanismo indireto envolve a reação do tecido-alvo com os radicais livres produzidos pela ação da radiação sobre a água. Estes incluem

radicais de OH e radicais de elétrons hidratados, sendo que a maioria dos danos biológicos radio-induzidos são resultantes dos efeitos indiretos sobre os tecidos. Isso reforça a primeira hipótese deste estudo, de que a radiação gama do Cobalto-60 teria efeitos deletérios sobre as propriedades mecânicas da dentina humana como visto nos resultados apresentados. Soares et al., 2009, verificaram redução na resistência coesiva da dentina humana frente ao mesmo protocolo testado neste estudo. Na análise por MEV, foi encontrado maior percentual de microfraturas na dentina, o que pode explicar a redução da microdureza encontrada neste estudo. Certamente a não verificação de influência no ensaio de resistência flexural, deve ser vista com ressalva. O preparo das amostras é muito mais sensível para este tipo de ensaio que parece ser ao mesmo tempo menos sensível a detecção de pequenas, porém importantes alterações, como foi observado no ensaio de microdureza.

Além de alterar propriedades mecânicas (microdureza) dos dentes, como foi demonstrado neste estudo, a radioterapia apresenta outros efeitos colaterais na cavidade oral. Em 2002, a American Dental Association (ADA) relatou como principais efeitos colaterais da quimioterapia e radioterapia a inflamação e ulceração das mucosas; boca e gengivas dolorosas; aumento do risco de

desenvolvimento de infecções bucais e sistêmicas; xerostomia; língua com sensação de ardor, descamada ou inchada; sensibilidade na mandíbula; prejuízo da capacidade mastigatória, fala ou deglutição; alteração do paladar e dieta empobrecida devido às dificuldades em se alimentar. Pow et al., (2003), demonstraram que a saúde oral de pacientes que foram submetidos a tratamento radioterápico de tumores de cabeça e pescoço fica comprometida, mesmo com acompanhamento regular de um profissional. Foi visto que a xerostomia, trismo e hipersensibilidade dental foram os problemas mais comumente encontrados nesses pacientes. Outro efeito colateral comum e indesejado que pode resultar do procedimento radioterápico são as cáries radio-induzidas, que se caracterizam por processo agressivo, rápido e rampante (Aguiar et al., 2009).

Estruturalmente as alterações características que ocorrem em dentes irradiados são raras ramificações dos prolongamentos odontoblásticos próximos da junção amelo-dentinária (Gotthard et al., 1922), obliteração dos túbulos dentinários antes dos limites dos tecidos duros (Regato et al., 1939) e a transmissão de luz fica reduzida a uma zona de 10 microns de largura ao longo da junção amelo-dentinária (Brown et al., 1975).

Rudat et al. (2000), concluíram que a obliteração dos túbulos dentinários seguida da degeneração dos prolongamentos odontoblásticos é resultado direto do dano celular causado pela radiação, o que reduz o metabolismo particularmente na área terminal dos odontoblastos. Diante de todas estas mudanças estruturais, conseqüentemente existem alterações nas propriedades mecânicas. Desta forma, pacientes que estão sendo submetidos ou irão se submeter a estes tratamentos requer atendimento mais cuidadoso devido a maior susceptibilidade a distúrbios orais. O pleno conhecimento da condição bucal do paciente antes e depois do tratamento pode estabelecer parâmetros para realização de medidas preventivas para controle e eliminação dos efeitos colaterais da radioterapia (Allison et al., 1999).

Apesar da dentina humana e bovina possuir número e diâmetro de túbulos semelhantes na porção coronária, na raiz a média do diâmetro dos túbulos da dentina bovina é maior que da dentina humana (Schilke et al., 1999; Schilke et al., 2000). Camargo (2007), também demonstrou que a porção radicular dos dentes bovinos tem maior número de túbulos dentinários que a mesma região em dentes humanos. Desta forma, pode-se sugerir que exista variação na quantidade de dentina peritubular, que representa a fase mais mineralizada da dentina, e

também de dentina intertubular que se encontra associada com os cristais de hidroxiapatita entre as duas espécies avaliadas. Assim, é possível explicar as alterações encontradas neste estudo entre a dentina radicular humana e bovina, pois as diferenças estruturais entre os substratos analisados parecem acarretar alterações nas propriedades mecânicas dos mesmos.

Outro resultado significativo encontrado neste estudo foi a ocorrência de alterações nas propriedades da dentina humana e bovina quando da associação entre o protocolo de irradiação empregado e o tratamento endodôntico. Como já demonstrado por outros estudos (Kielbassa et al., 1997), com a irradiação os radicais livres e peróxidos presentes na própria dentina podem desnaturar sua porção orgânica, alterando suas propriedades mecânicas. Desta forma, pode-se sugerir que a associação destes dois fatores promova efeitos deletérios nas propriedades mecânicas de dentes tratados endodonticamente, o que indica um maior cuidado e manutenção para com esses elementos em pacientes portadores de tumores na região de cabeça e pescoço e que necessitem de radioterapia.

O uso de dentes humanos em pesquisas está se tornando cada vez mais restrito, devido às limitações éticas, dificuldade de coleta e padronização (Reis et al., 2004; Fonseca et al., 2004) e a

menor frequência de extração dental. Com isso, os dentes de animais estão sendo cada vez mais utilizados em substituição aos dentes humanos, dentre estes os dentes bovinos são a escolha mais comum, pois são facilmente recolhidos e não apresentam propósitos comerciais (Resende et al., 2002; Pinelli et al., 2004). A avaliação das propriedades mecânicas destes dentes em comparação com os dentes humanos é necessária para possível substituição dos dentes humanos em pesquisas sem alteração dos resultados.

Além disso, este estudo foi conduzido em condições laboratoriais e o mesmo apresenta limitações intrínsecas. Estudos futuros que contemplem *in vivo* as alterações das propriedades mecânicas de dentes tratados endodonticamente ou não, em pacientes que se submetem a radioterapia para tratamento de tumores localizados na região de cabeça e pescoço podem ser benéficos no intuito de sugerir novos protocolos que permitam melhor manutenção dos dentes na cavidade oral, melhorando conseqüentemente as condições de vida destes pacientes.

CONCLUSÕES

- A resistência flexural de ambos os substratos avaliados não foi alterada com a aplicação do

protocolo radioterápico bem como com a utilização do tratamento endodôntico nos espécimes;

- O protocolo radioterápico empregado neste estudo reduziu a microdureza das dentinas humana e bovina;
- A associação do tratamento endodôntico com o protocolo radioterápico empregado provocou maior redução na microdureza das dentinas humana e bovina quando comparada ao protocolo radioterápico aplicado isoladamente;
- O protocolo radioterápico utilizando radiação gama do Cobalto-60 produziu efeitos deletérios nas propriedades mecânicas das dentinas humanas e bovinas.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostaria de agradecer o apoio prestado pela FAPEMIG (3928), e ao Pibic/UFU pela concessão da bolsa que auxiliou fundamentalmente no desenvolvimento desse trabalho.

REFERÊNCIAS:

AGUIAR GP, JHAM BC, MAGALHÃES CS, SENSI LG, FREIRE AR. A review of the biological and clinical aspects of radiation caries. *J Contemp Dent Pract.* 2009 Jul 1;10(4):83-9.

ALLISON, P. J., LOCKER, D., FEINE, J. S. The relationship between dental status and health-related quality of life in upper aerodigestive tract cancer patients. *Oral Oncol.* v.35, n. 2, p. 138- 143, 1999.

AL-NAWAS, B., GROTZ, 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. 168-72, 2000.

AMERICAN DENTAL ASSOCIATION, Survey Center. *Distribution of Dentists in the United States by Region and State.* Chicago, IL: American Dental Association; 1982, 1987,1991,2002.

ANGKER, L., NIJHOF, N., SWAIN, M. V., KILPATRICK, N. M. Influence of hydration and mechanical characterization of carious primary dentine using an ultra-micro indentation system (UMIS). *European Journal of Oral Sciences* v. 112, p. 231-236, 2004.

ARI, H., ERDEMIR, A. Effects of endodontic irrigation solutions on mineral content of root canal dentin using ICP-AES technique. *J Endod* v. 31, n. 3, p. 187-189, 2005.

BAKER, D. G. The radiobiological basis for tissue reactions in the oral cavity following therapeutic x-irradiation. A review. *Arch Otolaryngol* v. 108, p. 21–24, 1982.

BARCELLOS-HOFF, M. H., RAVANI, S. A. Irradiated mammary gland stroma promotes the expression of tumorigenic potential by unirradiated epithelial cells. *Cancer Res* v. 60, n. 5, p. 1254–1260, 2000.

BIFFI, J. C. G., RODRIGUES, H. H. Ultrasound in endodontics: a quantitative and histological assessment using human teeth. *Endod Dent Traumatol* v. 5, n. 1, p. 55-62, 1989.

BIVEN, G. M., BAPNA, M. S., HEUER, M. A. Effect of eugenol and eugenol-containing root canal sealers on the microhardness of human dentin. *J Dent Res* v. 51, p. 1602-1609, 1972.

BLASER, P. K., LUND, M. R.,

COCHRAN, M.A., POTTER, R. H. Effect of designs of Class 2 preparations on resistance of teeth to fracture. *Oper Dent* v. 8, p. 6-10, 1983.

BROWN, L. R., DREIZEN, S.HANDLER, S., et al. Effect of radiationinduced xerostomia on human oral microflora. *J Dent Res* v. 54, p. 740-750, 1975.

CAMARGO, C. H., SILVIERO, M., CAMARGO, S. E., DE OLIVEIRA, S. H., CARVALHO, C. A., VALERA, M. C. Topographical, diametral, and quantitative analysis of dentin tubules in the root canals of human and bovine teeth. *J Endod* v. 33, n. 4, p. 422-426, 2007.

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 Oncol* v. 47, p. 809-842, 2008.

DOYON, G. E., DUMSHA, T., VON FRAUNHOFER, J. A. Fracture resistance of human root dentin exposed to intracanal calcium hydroxide. *J Endod* v. 31, p. 895-897, 2005.

DRISCOLL, C. O., DOWEKER, S. E.; ANDERSON, P., WILSON, R. M.,

GULABIVALA, K. Effects of sodium hypochlorite solution on root dentine composition. *J Mater Sci Mater Med* v. 13, p. 219-223, 2002.

FONSECA, R. B., HAITER-NETO, F., FERNANDES-NETO, A. J., BARBOSA, G. A., SOARES, C. J. Radiodensity of enamel and dentin of human, bovine and swine teeth. *Arch Oral Biol* v. 49, n.11, p. 919-922, 2004

FUJITA, T. *Histology of the teeth*. Tokyo: Ishiyaku Shuppan, 1957.

GHER, M. E., DUNLAP, R. M., ANDERSON, M. H., KUHL, L. V. Clinical survey of fractured teeth. *Journal of the American Dental Association* v. 114, p. 174-177, 1987.

GIANNINI, M., SOARES, C. J., DE CARVALHO, R. M. Ultimate tensile strength of tooth structures. *Dent Mater* v. 20, n. 4, p. 322-329, 2004.

GOTTHARD, F. P., ÜBER ZAHNSCHÄ NACH RÖNTGENSTRAHLUNGEN. *Verh dtsh Rontgen-Ges* v. 13, p. 139-142, 1922.

HABELITZ S, MARSHALL SJ, MARSHALL GW JR, BALOOCH M. Mechanical properties of human dental

enamel on the nanometre scale. *Arch Oral Biol* v. 46, n. 2, p.173-183, 2001.

HELPER, A. R., MELNICK, S., SCHILDER, H. Determination of the moisture content of vital and pulpless teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* v. 34, p. 661-670, 1972.

HOOD, J. A. Biomechanics of the intact, prepared and restored tooth: some clinical implications. *Int Dent J* v. 41, p. 25-32, 1991.

International Organization for Standardization EN ISO178 :2003. Determination of flexural properties. Geneva: International Organization for Standardization, 2003.

KIELBASSA AM, BEETZ I, SCHENDERA A, HELLWIG E. Irradiation effects on micro hardness of fluoridated and non-fluoridated bovine dentin. *Eur J Oral Sci.* 1997; 105:444-7.

KINNEY, J. H., BALOOCH, M., MARSHALL, G. W., MARSHALL, S. J. A micromechanics model of the elastic properties of human dentine. *Archives of Oral Biology* v. 44, p. 813-822, 1996.

KINNEY, J. H., BALOOCH, M.,

MARSHALL, G. W., MARSHALL, S. J. Atomic force microscope study of dimensional changes in dentine during drying. *Archives of Oral Biology* v. 38, p. 1003-1007, 1993.

KINNEY, J. H., MARSHALL, S. J., MARSHALL, G. W. The mechanical properties of human dentin: a critical review and re-evaluation of the dental literature. *Crit Rev Oral Biol Med* v. 14, n. 1, p. 13-29, 2003.

LEICESTER, H. *Biochemistry of the teeth*, 1st ed. St. Louis:C.V. Mosby Co.; 1949.

MARSHALL, G. W. Dentin microstructure and characterisation. *Quintessence International* v. 24, p. 606-617, 1993.

MEDEIROS, E. B., CARVALHO, D. S. S., GOMINHO, L. F., QUINTAS, C. L., RODRIGUES, M. J. Manifestações bucais em crianças submetidas a tratamento antineoplásico no Centro Oncológico do Hospital Universitário Oswaldo Cruz. *Jornal Brasileiro de Odontopediatria e Odontologia do Bebê* v. 5, n.28, 2002

MEISTER, F., LOMMEL, T. J., GERSTEIN, H. Diagnosis and possible causes of vertical root fractures. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* v. 49, p. 243-253, 1980.

MENEZES, M.S. Influência do cimento endodôntico na adesão do pino de fibra de vidro à dentina radicular. Dissertação. Uberlândia: FOUFU/UFU; 2006.

NAKAMICHI, I., IWAKU, M., FUSAYAMA, T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. *J Dent Res* v. 62, n. 10, p. 1076-1081, 1983.

OKINO, L. A., SIQUEIRA, E. L., SANTOS, M., BOMBANA, A. C., FIGUEIREDO, J. A. P. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconato and chlorhexidine digluconato gel. *Int Endod J* v. 37, n. 1, p. 38-41, 2004.

PANITVISAI, P., MESSER, H. H. Cuspal deflection in molars in relation to endodontic and restorative procedures. *Journal of Endodontics* v. 21, p. 57-61, 1999.

PASHLEY, D. H. Dentin permeability. In: SPANGBERG, L.S.W. *Experimental Endodontics*. CRS Press, Boca Raton, FL, 1990. p. 19-49.

PASHLEY, D., OKABE, A., PARHAM, P. The relationship between dentin microhardness and tubule density. *Endod Dent Traumatol* v. 1, n. 5, p. 176-179, 1985.

PETERSON, L. J., ELLIS, E., HUPP, J. R., TUCKER, M. R. *Cirurgia Oral e Maxilofacial Contemporânea*. Editora Guanabara Koogan, São Paulo 2000, 3º ed.

PINELLI, L. A. P., FARIA, I. R., MARCELO, C. C., PITA, A. P. G., SILVA, R. H. B. T., GUAGLIANONI, D. G. Estudo fotomicrográfico do desgaste de pontas diamantadas em diferentes substratos. *Cienc Odontol Bras* v. 7, n. 4, p. 60-66, 2004.

PIOCH, T., MOLLER, D., STAEHL, H. J., HOPPE, W. Solubility of enamel and synthetic hydroxylapatite on irradiation. *Dtsch Zahnarztl Z* v. 46, n. 6, p. 413-415, 1991.

PISTOIA, A. D., PISTOIA, G. D., NETO, M. M., HAHN, D., RIGODANZO, L. Manifestações bucais decorrentes do tratamento antineoplásico. *Revista de Dentística* v. 3, n. 9, 2004.

POW EH, MCMILLAN AS, LEUNG WK, KWONG DL, WONG MC. Oral health condition in southern Chinese after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma: extent and nature of the problem. *Oral Dis*. 2003 Jul;9(4):196-202.

QUEIROZ, E. C., MENEZES, M. S., BIFFI, J. C., SOARES, C. J. Influence of

the shape core on custom cast dowel and core removal by ultrasonic energy. *J Oral Rehabil.* v. 34, n. 6, p. 463-467, 2007.

RAPOSO, L. H. A., MENDONÇA, P. M., SANTOS-FILHO, P. C. F., DA SILVA, G. R., SOARES, C. J. Influência da presença e localização de trava anti-rotacional na resistência à fratura e deformação de raízes de incisivos bovinos. *Hor Cientif.* v. 1, n.8, 2008.

REEH, E. S., MESSER, H. H., DOUGLAS, W. H. Reduction in tooth stiffness as a result of endodontic and restorative procedures. *Journal of Endodontics* v. 15, p. 512-516, 1989.

REGATO, J. A. Dental lesions observed after Roentgen therapy of the buccal cavity, pharynx and larynx. *Am J Roentgenol* v. 42, p. 404, 1939.

REIS, A. F., GIANNINI, M., KAVAGUCHI, A., SOARES, C. J., LINE, S. R. Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine, and porcine teeth. *J Adhes Dent.* v. 6, n. 2, p. 117-121, 2004.

RENSON, C. E., BOYDE, A., JONES, S. J. Scanning electron microscopy of human dentine specimens fractured in bend and torsion tests. *Archives of Oral Biology* v.

19, p. 447-454, 1974.

RESENDE, A. M, GONÇALVES, S. E. P. Evaluation of the marginal leakage in human and bovine teeth with two different adhesive systems. *Cienc Odontol Bras.* v. 5, n. 3, p. 38-45, 2002

RUDAT V, MEYER J, MOMM F, BENDEL M, HENKE M, STRNAD V, GRÖTZ K, SCHULTE A. Protective effect of amifostine on dental health after radiotherapy of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000 Dec 1;48(5):1339-43.

SAFAVI, K. E., SPANGBERG, L. S., LANGELAND, K. Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endod* v. 16, n.5, p.207-210, 1990.

SANTANA, F. R., PEREIRA, J. C., PEREIRA, C. A., FERNANDES-NETO, A. J., SOARES, C. J. Influence of method and period of storage on the microtensile bond strength of indirect composite resin restorations to dentine. *Braz Oral Res.* v. 22, n. 4, p. 352-357, 2008.

SANTO-FILHO, P. C., CASTRO, C. G., SILVA, G. R., CAMPOS, R. E., SOARES, C. J. Effects of post system and length on the strain and fracture resistance of root filled bovine teeth. *Int Endod J.* v. 41, n. 6,

p. 493-501, 2008.

SANTOS, J. N., CARRILHO, M. R., GOES, M. F., ZAIA, A. A., GOMES, B. P. A., SOUZA-FILHO, F. J., FERRAZ, C. C. R. Effect of chemical irrigants on the bond strenght of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. *J Endod* v. 32, n. 11, p. 1088-1090, 2006.

SARKARIA, J. N., BRISTOW, R. G. Overview of cancer molecular radiobiology. *Cancer Treat Res* v. 139, p. 117-133, 2008.

SCHILKE, R., BAUSS, O., LISSON, J. A., SCHUCKAR, M., GEURTSSEN, W. Bovine dentin as a substitute for human entin in shear bond strength measurements. *Am J Dent* v. 12, p. 92-96, 1999.

SCHILKE, R., LISSON, J. A., BAUSS, O., GEURTSSEN, W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol* v. 45, n. 5, p. 355-361, 2000.

SELTZER, S., FARBER, P. A. Microbiologic factors in endodontology. Review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* v. 78, n. 5, p. 634-645, 1994.

SLUTZKY-GOLDBERG, I., MAREE, M., LIBERMAN, R., HELING, I. Effect of sodium hypochlorite on dentin microhardness. *J Endod* v. 30, n. 12, p. 880-882, 2004.

SOARES, C. J., NEIVA, N. A., CASTRO, C. G., NAVES, L. Z., SOARES, P. V., SANTOS-FILHO, P. C. Effect of gamma radiation on ultimate tensile strength of tooth structures. *J Dent Res*, in press, 2009.

SOARES, P. V., SANTOS-FILHO, P. C., MARTINS, L. R., SOARES, C. J. Influence of restorative technique on the biomechanical behavior of endodontically treated maxillary premolars. Part I: fracture resistance and fracture mode. *J Prosthet Dent* v. 99, n. 1, p. 30-37, 2008.

SUGA, S., KONDO, M., ONODERA, A., KUBOTA, Y., OHTSUKA, M. Electron microprobe analyses on the distributions of Cl, Mg, Na, in the enamels of various animals. *Jpn J Oral Biol* v. 13, p. 85-94, 1971.

TAKAHASHI, K. Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. *Int Endod J* v. 31, n. 5, p. 311-325, 1998.

TORABINEJAD, M., HANDYSIDES, R.,

KHADEMI, A. A., BAKLAND, L. K.
Clinical implications of the smear layer in
endodontics: A review. *Oral Surg Oral Med
Oral Pathol Oral Radiol Endod* v. 94, n. 6,
p. 658-666, 2002.

VERSLUIS, A., MESSER, H. H.,
PINTADO, M. R. Changes in compaction
stress distributions in roots resulting from
canal preparation. *Int Endod J.* v. 39, n. 12,
p. 931-939, 2006.