

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
ODONTOLÓGICAS
ASSOCIAÇÃO COM O PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO
SUL**

**EFEITO DA DOXICICLINA NA RESISTÊNCIA DE
UNIÃO À DENTINA DE UM SISTEMA ADESIVO
*ETCH-AND-RINSE***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Héllen de Lacerda Oliveira

Santa Maria, RS, Brasil

2012

EFEITO DA DOXICICLINA NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO À DENTINA DE UM SISTEMA ADESIVO *ETCH-AND-RINSE*

Héllen de Lacerda Oliveira

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração em Odontologia, com ênfase em Odontopediatria, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM,RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Odontológicas.

Orientadora: Prof^a Dra Rachel de Oliveira Rocha

Santa Maria, RS, Brasil

2012

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas
Associação com o Programa de Pós-Graduação em Odontologia da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**EFEITO DA DOXICICLINA NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO À DENTINA
DE UM SISTEMA ADESIVO *ETCH-AND-RINSE***

elaborada por
Héllen de Lacerda Oliveira

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Odontológicas

COMISSÃO EXAMINADORA

Rachel de Oliveira Rocha, Dra.
(Presidente/Orientadora)

Leonardo Eloy Rodrigues Filho, Dr. (USP)

Alexandre Henrique Susin, Dr. (UFMS)

Santa Maria, 08 de fevereiro de 2012

Dedico esta dissertação

A Deus, por iluminar e guiar meu caminho, por me permitir aproveitar as oportunidades que a vida oferece, por me dar forças para sonhar e acreditar que a vida vale a pena.

*À minha família, meus pais queridos **Helder** e **Rosa**, meus “vêios” amados que me proporcionaram tudo que foi necessário para que eu pudesse chegar até aqui e alçar vôos mais altos. Por acreditarem nos meus sonhos e possibilitarem que eles se tornem realidade. Pelo amor, carinho e dedicação. E a meus irmãos, **Halber** e **Lauren**. Amo muito vocês.*

*Pai e Mãe
Queria lhes dizer o que eu sinto aqui dentro de mim
sentimento puro e verdadeiro de um amor sem fim
resumindo, pai e mãe, te amo e vai ser sempre assim.
(Michel Teló)*

*Ao meu noivo **Ricardo**, pelo amor e companheirismo, por estar sempre presente me incentivando a conquistar meus sonhos, nossos sonhos. Por ser esta pessoa maravilhosa com quem posso contar em todos os momentos, tornando os dias tristes em alegres, as tempestades em garoas... Te amo.*

*Por meus valores que você aumenta,
por minha fé que você alimenta...
Por esta paz que nós nos transmitimos,
por este pão de amor que repartimos...
Pelo silêncio que diz quase tudo,
por este olhar que me reprova mudo...
Pela pureza dos seus sentimentos,
pela presença em todos os momentos...
Por ser presente, mesmo quando ausente,
por ser feliz quando me vê contente...
(Fernando Toscano)*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora **prof^a Dra Rachel de Oliveira Rocha**, primeiramente por ter me possibilitado a realização do mestrado sob sua orientação, oportunizando meu crescimento científico e humano. Por compartilhar de sua experiência e sabedoria, obrigada pelos ensinamentos, dedicação e paciência.

À **Universidade Federal de Santa Maria** e ao **Curso de Odontologia** por me proporcionarem a excelente formação profissional desde a graduação.

Ao **Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas** e a todos os professores, Beatriz Unfer, Bruno Silveira, Carlos Alexandre Bier, Carlos Heitor Moreira, Karla Kantorski, Katia Braun, Márcia Schmitz, Osvaldo Kaizer, Paulo Burmann, Rachel Rocha, Renésio Grehs, Roselaine Pozzobon, Tiago Ardenghi e Vilmar Ferrazo, em especial a Alexandre Susin, Juliana Praetzel, Luis Felipe Valandro e Rachel Rocha.

À querida e indispensável secretária do PPGCO, **Jéssica Dalcin da Silva**, por sua prestatividade, seu profissionalismo e competência, além dos bons momentos de convivência.

Ao Departamento de Estomatologia, especialmente ao **prof^o Walter Blaya Peres**, por sua prestatividade e colaboração com materiais necessários para a pesquisa.

Aos **professores da Disciplina de Odontopediatria e Saúde Coletiva II e III** que oportunizaram a execução do estágio em docência, proporcionando o aprimoramento profissional.

A todos os meus colegas de mestrado, **Aline, Ana, Bruna, Cláudia, Débora, Deise, Gisele, Juliana, Lisandra, Manuela, Maristela, Patrícia, Regina, Renata, Rodrigo, Stefanie, Tatiana, Victor Hugo e Vinícius**, pela amizade e convivência e principalmente aos companheiros de laboratório pela ajuda com os equipamentos, pelos materiais emprestados e/ou doados e pelas experiências compartilhadas. Estendendo aos demais colegas de mestrado das outras turmas, especialmente a **Tamara Kerber Tedesco** por sua enorme contribuição para realização deste trabalho.

À **Bruna Buzatti, Deise Osmari e Juliana Broch** muito mais que colegas, amigas desde a graduação. O convívio no mestrado aproximou-nos ainda mais. Muito obrigada pela amizade, por compartilharem comigo os bons e maus momentos desta etapa. Nossas conversas foram valiosas durante este período.

À **Simone Machado e Daniela Tolfo**, que me “aguentaram” por muito mais que o período do mestrado, pela amizade e por estarem presentes nesta etapa.

À **Fabiana Vargas Ferreira**, pela amizade e pela imensa ajuda desde a graduação.

Ao **Fábio Zovico Soares**, pela sua valiosa contribuição na realização deste trabalho.

Ao **profº Leonardo Eloy Rodrigues Filho** e a todo Departamento de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia da USP, por terem me recebido tão bem.

Aos **bancos de dentes** da Universidade Federal de Santa Maria, da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo e do Centro Universitário Franciscano pela contribuição.

À **CAPES** pela bolsa concedida durante alguns meses deste mestrado.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

"O conhecimento é orgulhoso por ter aprendido tanto; a sabedoria é humilde por não saber mais." (William Cowper)

EPÍGRAFE

... Gostaria que você sempre se lembrasse de que ser feliz não é ter um céu sem tempestade, caminhos sem acidentes, trabalhos sem fadigas, relacionamentos sem decepções.

Ser feliz é encontrar força no perdão, esperança nas batalhas, segurança no palco do medo, amor nos desencontros.

Ser feliz não é apenas valorizar o sorriso, mas refletir sobre a tristeza. Não é apenas comemorar o sucesso, mas aprender lições nos fracassos. Não é apenas ter júbilo nos aplausos, mas encontrar alegria no anonimato...

Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e se tornar um autor da própria história. É atravessar desertos fora de si, mas ser capaz de encontrar um oásis no recôndito da sua alma.

Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos. É saber falar de si mesmo. É ter coragem para ouvir um "não". É ter segurança para receber uma crítica, mesmo que injusta.

Ser feliz é deixar viver a criança livre, alegre e simples, que mora dentro de cada um de nós. É ter maturidade para falar "eu errei". É ter ousadia para dizer "me perdoe". É ter sensibilidade para expressar "eu preciso de você". É ter capacidade de dizer "eu te amo". É ter humildade e receptividade.

...E, quando você errar o caminho, recomece, pois assim você descobrirá que ser feliz não é ter uma vida perfeita, mas usar as lágrimas para irrigar a tolerância.

Usar as perdas para refinar a paciência.

Usar as falhas para lapidar o prazer.

Usar os obstáculos para abrir as janelas da inteligência.

Jamais desista de si mesmo.

Jamais desista das pessoas que você ama.

Jamais desista de ser feliz, pois a vida é um espetáculo imperdível, ainda que se apresentem dezenas de fatores a demonstrarem o contrário.

(Fernando Pessoa)

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas
Universidade Federal de Santa Maria

EFEITO DA DOXICICLINA NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO À DENTINA DE UM SISTEMA ADESIVO *ETCH-AND-RINSE*

AUTORA: HÉLLEN DE LACERDA OLIVEIRA

ORIENTADORA: RACHEL DE OLIVEIRA ROCHA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 08 de fevereiro de 2012.

Este trabalho teve como objetivo geral, avaliar a influência de uma substância inibidora de metaloproteinases (MMPs), a doxiciclina, na resistência de união (RU) à dentina de um sistema adesivo com condicionamento prévio, considerando duas formulações (diferentes pHs) e dois substratos (hígido e desmineralizado) de dentes decíduos e permanentes. O trabalho está dividido em dois artigos, sendo o primeiro realizado com o intuito de avaliar o efeito da aplicação da doxiciclina ácida ou neutra na RU à dentina. Para isso, foram selecionados 20 terceiros molares hígidos, os quais foram divididos em 4 grupos experimentais (doxiciclina pH ácido, doxiciclina pH neutro, clorexidina e controle – nenhum tratamento). Os dentes foram seccionados próximo ao terço médio da coroa para obtenção de uma superfície dentinária plana, a qual foi submetida a: condicionamento ácido, tratamento de acordo com o grupo, ou seja, aplicação da substância correspondente na superfície condicionada, aplicação do sistema adesivo e restauração com resina composta. Após armazenamento (24h em água destilada a 37°C) os espécimes foram seccionados para obtenção de “palitos” (área de secção transversal de aproximadamente 0,9mm²), os quais foram submetidos a ensaio de tração. Os valores médios de RU foram submetidos à análise de variância com um fator e ao teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Os valores de RU (em MPa) obtidos para os grupos tratados com as soluções de doxiciclina em diferentes pHs apresentaram valores de RU estatisticamente semelhantes entre si e aos grupos controle e clorexidina. Para o segundo estudo, foram selecionados 30 terceiros molares permanentes e 30 segundos molares decíduos hígidos, os quais foram divididos em 12 grupos experimentais (n=5) de acordo com o tratamento da superfície após condicionamento ácido: doxiciclina, clorexidina e controle, e a condição do substrato: hígido e desmineralizado (ciclagem de pH). O preparo dos espécimes, procedimentos restauradores e ensaio de tração foram realizados da mesma forma que no estudo anterior. Os valores de RU obtidos foram submetidos à análise de variância de dois fatores e ao teste de Tukey ($\alpha=0,05$), considerando separadamente dentes decíduos e permanentes. Para os dois tipos de dentes, a aplicação de solução de doxiciclina não afetou a resistência de união imediata, enquanto o substrato desmineralizado apresentou valores estatisticamente inferiores ao grupo hígido. A solução de doxiciclina, mesmo em pH ácido, parece não afetar a resistência de união imediata à dentina, sendo que o substrato desmineralizado merece atenção por apresentar valores de RU imediata reduzidos comparado ao hígido.

Palavras-chave: Clorexidina. Doxiciclina. Metaloproteinases. Resistência de União. pH.

ABSTRACT

Master Course Dissertation
Post Graduate Program in Dental Science
Federal University of Santa Maria

EFFECT OF DOXYCYCLINE ON THE MICROTENSILE BOND STRENGTH OF A ETCH-AND-RINSE ADHESIVE SYSTEM TO DENTIN

AUTHOR: HÉLLEN DE LACERDA OLIVEIRA

ADVISER: RACHEL DE OLIVEIRA ROCHA

Defense Place and Date: Santa Maria, February 08nd, 2012.

This study evaluated as overall purpose the influence of doxycycline used as a matrix metalloproteinase (MMPs) inhibitor on the microtensile bond strength (μ TBS) of a total etching adhesive system to dentin, considering two formulations (different pHs) and two substrates (sound and demineralized) of primary and permanent teeth. The study is divided into two articles, the aim of the first article was to evaluate the application's effect of acidic or neutral doxycycline on the μ TBS to dentin. Twenty extracted noncarious third molars were divided into 4 groups (doxycycline acidic pH, doxycycline neutral pH, chlorhexidine and control - no treatment). A flat dentin surface was exposed, wet grinding and submitted to: acid etch, application of the substance corresponding treatment group, application of adhesive system and resin composite. The specimens were stored (24 h in distilled water) and sectioned to obtain sticks (cross-sectional area of approximately 0.9 mm²). The sticks were submitted to tensile test. The mean μ TBS were submitted to a one-way ANOVA and Tukey's test ($\alpha = 0.05$). No significant difference of immediate μ TBS (MPa) was observed between the neutral and acidic doxycycline, furthermore the solutions of different pH values were statistically similar to control and chlorhexidine groups. For the second study 30 permanent molars and 30 second primary molars were divided into 12 experimental groups (n = 5) according to the surface treatment after etching: doxycycline, chlorhexidine and control, and the condition substrate: sound and demineralized (pH cycling). The specimens preparation, restorative procedures and tensile test were performed in the same way as in the previous study. The μ TBS were subjected to a two-way ANOVA and Tukey's test ($\alpha = 0.05$), considering separately primary and permanent teeth. For both teeth types the application of doxycycline did not affect the immediate μ TBS, while the demineralized substrate values were statistically lower than the sound group. The doxycycline solution, even at acidic pH, does not seem to affect the immediate bond strength to dentin, while demineralized substrate needs attention by presenting μ TBS immediately reduced compared to sound.

Keywords: Chlorhexidine. Doxycycline. Metalloproteinase. Bond strength. pH.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
ARTIGO 1 – INFLUÊNCIA DA DOXICICLINA COM DIFERENTES pHs NA UNIÃO À DENTINA DE SISTEMA ADESIVO COM CONDICIONAMENTO ÁCIDO PRÉVIO	13
Resumo	15
Introdução	16
Materiais e métodos	17
Seleção dos dentes e preparo.....	17
Procedimento adesivo e restaurador.....	17
Análise estatística	18
Resultados	19
Discussão	19
Conclusão	21
Relevância clínica	21
Referências bibliográficas	22
ARTIGO 2 – INFLUÊNCIA DA DOXICICLINA NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO À DENTINA DESMINERALIZADA DE DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES	28
Resumo	30
Introdução	31
Materiais e métodos	32
Preparo dos espécimes.....	33
Substrato de dentina desmineralizada	33
Procedimento adesivo e restaurador.....	34
Resultados	35
Discussão	35
Conclusão	37
Relevância clínica	38
Referências bibliográficas	39
DISCUSSÃO	46
CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS	50
ANEXOS	55
Anexo A – Carta de aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa	55
Anexo B – Normas de publicação da revista	56

INTRODUÇÃO

A preferência pelas resinas compostas como material restaurador de uso direto em dentes anteriores e posteriores é incontestável e universal. Ainda que tenham sofrido considerável aperfeiçoamento das suas propriedades mecânicas e estéticas, seu uso freqüente é possível em razão da associação aos sistemas adesivos, que também tiveram notável aprimoramento desde a proposta de Buonocore (1955). Contudo a combinação de sistemas adesivos e resinas compostas não é, de longe, o paradigma definitivo da odontologia restauradora, dado as falhas verificadas em inúmeros estudos clínicos (HASHIMOTO et al., 2000; HEBLING et al., 2005; CARRILHO et al., 2007a; PALANIAPPAN et al., 2009; RICCI et al., 2010). O insucesso das restaurações adesivas pode estar associado, em parte, a degradação da camada híbrida e deterioração das fibras colágenas (DE MUNCK et al., 2003; CARRILHO et al., 2007a; HASHIMOTO et al., 2010; FUKUOKA et al., 2011), levando a redução da resistência de união (RU) da interface adesiva ao longo do tempo (CARRILHO et al., 2007a; BRESCHI et al., 2010b; HASHIMOTO et al., 2010).

Estudos prévios sugerem que o processo de degradação da interface adesiva está relacionado à presença de enzimas proteolíticas (CARRILHO et al., 2007a; BRESCHI et al., 2010b), as metaloproteinases (MMPs), provenientes da matriz dentinária, as quais também estão envolvidas com a progressão da lesão cariosa (TJADERHANE et al., 1998; SULKALA et al., 2001). Assim, a aplicação de substâncias inibidoras dessas enzimas pode ser capaz de reduzir a deterioração das fibras colágenas (PASHLEY et al., 2004; HEBLING et al., 2005; CARRILHO et al., 2007b) aumentando a longevidade da união adesiva.

O digluconato de clorexidina tem sido apontado como uma substância promissora na inibição de tais enzimas e resultados satisfatórios vêm sendo encontrados em estudos laboratoriais (BRESCHI et al., 2010b; CARRILHO et al., 2007a; KOMORI et al., 2009) e clínicos (HEBLING et al., 2005; BRACKETT et al., 2007; CARRILHO et al., 2007b), avaliando com mais freqüência o substrato dentinário permanente hígido (CARRILHO et al., 2007a; BRESCHI et al., 2009; BRESCHI et al., 2010b), havendo menos informações quanto ao seu uso em

substrato de dentes decíduos (HEBLING et al 2005; RICCI et al., 2010). No entanto existem outras substâncias que apresentam forte potencial de inibição das MMPs, dentre elas, as tetraciclinas e seus derivados (HANEMAAIJER et al., 1998; GRENIER et al., 2002), as quais vêm sendo extensamente estudadas na inibição de MMPs em áreas de maior impacto, na tentativa de controlar doença pulmonar obstrutiva crônica (DALVI et al., 2011), úlcera gástrica (SINGH et al., 2011) e até mesmo o câncer (LOKESHWAR, 2011). Sendo que a doxiciclina pareceu, em um experimento animal, ser a mais potente inibidora de MMPs dentre as tetraciclinas (BURNS et al., 1989).

Além disso, estudos da área de periodontia vêm se valendo, há muito tempo, tanto das propriedades antimicrobianas como anti MMPs das tetraciclinas em uso local (ADDY et al., 1988; POURTAGHI et al., 1996; WENNSTRÖM et al., 2001) ou sistêmico (EMINIGIL et al., 2004), sendo sua aplicação local preferível devido à menores de efeitos adversos (WENNSTRÖM et al., 2001; AKALIN et al., 2004). Com relação à doença cárie, além de inibir MMPs, a doxiciclina ainda poderia agir contra microorganismos cariogênicos remanescentes após o preparo cavitário (CASTILHO et al., 2011). Entretanto são escassos os trabalhos que avaliam a ação desta substância na união adesiva (STANISLAWCZUK et al., 2011).

Assim a avaliação do uso de tetraciclinas como inibidoras de MMPs, na tentativa de preservar a união adesiva, parece ser válida, especialmente em dentina desmineralizada, dado que estas substâncias podem ter efeito semelhante ou mesmo superior aquele observado quando do uso do digluconato de clorexidina.

**ARTIGO 1 - INFLUÊNCIA DA DOXICICLINA COM DIFERENTES
pHs NA UNIÃO À DENTINA DE SISTEMA ADESIVO COM
CONDICIONAMENTO ÁCIDO PRÉVIO**

Este artigo será submetido à publicação na revista "*The Journal of Adhesive Dentistry*".

Influência da doxiciclina com diferentes pHs na união à dentina de sistema adesivo com condicionamento ácido prévio

Héllen de Lacerda Oliveira

Aluna do Curso de Mestrado em Ciências Odontológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Executou a pesquisa como requisito parcial para o título de mestre. Telefone: (55) 8118 4320, e-mail: hellen.loli@gmail.com Rua Floriano Peixoto 1184, Sala 109, Santa Maria, RS.

Tamara Kerber Tedesco

Aluna de Doutorado, Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brasil. Auxiliou a realização da parte experimental da pesquisa e revisou o artigo. Telefone: (55) 3220 9291, e-mail: tatedesco@hotmail.com Rua Floriano Peixoto 1184, Sala 109, Santa Maria, RS.

Fabio Zovico Soares

Professor substituto, Departamento de Odontologia Restauradora, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Supervisionou a realização da parte experimental da pesquisa e revisou o artigo. Telefone: (55) 3220 9291, e-mail: fzovico@ajato.com.br Rua Floriano Peixoto 1184, Sala 109, Santa Maria, RS.

Rachel de Oliveira Rocha

Professora adjunta, Departamento de Estomatologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Definiu as hipóteses, delineamento experimental, análise estatística, revisou e corrigiu o artigo. Telefone: (55) 3220 9291, e-mail: rarocho@usp.br Rua Floriano Peixoto 1184, Sala 109, Santa Maria, RS.

Correspondência:

Héllen de Lacerda Oliveira

Rua Floriano Peixoto 1184, Sala 109, Santa Maria, RS.

Telefone: 0xx55 81184320

e-mail: hellen.loli@gmail.com

Palavras chave: Doxiciclina, metaloproteinases, resistência de união, pH.

Resumo

Objetivo: Avaliar o efeito das soluções de doxiciclina ácida e neutra na resistência de união à dentina de sistema adesivo com condicionamento ácido prévio.

Materiais e métodos: Foram selecionados 20 terceiros molares hígidos divididos em 4 grupos experimentais (n=5) de acordo com o tratamento da superfície após condicionamento ácido: Doxiciclina pH ácido (cloridrato de doxiciclina a 10% por 60s), Doxiciclina pH neutro (hiclato de doxiciclina a 10% por 60s), Clorexidina (clorexidina a 2% por 60s), e Controle (nenhum tratamento). Superfícies planas de dentina foram obtidas com posterior condicionamento ácido, tratamento de acordo com o grupo experimental e aplicação do sistema adesivo. Após, foram confeccionados blocos de resina composta e os espécimes foram armazenados em água destilada (24h a 37°C) e então seccionados para a obtenção de “palitos” com área de secção transversal de 0,9mm², os quais foram submetidos a ensaio de tração. Os valores médios de resistência de união (RU) em MPa foram submetidos a Análise de Variância com um fator e teste de Tukey($\alpha=0,05$).

Resultados: Todos os grupos apresentaram valores de resistência de união estatisticamente semelhantes. O grupo clorexidina foi o que apresentou maior número de falhas pré-teste (FPT).

Conclusão: A doxiciclina, tanto com pH ácido quanto neutro, não prejudica a resistência de união imediata do sistema adesivo de condicionamento ácido prévio avaliado.

Introdução

A união dos materiais restauradores adesivos ao tecido dentinário se dá pela remoção ou modificação do componente inorgânico e exposição da matriz orgânica que será entremeada pelos monômeros resinosos do sistema adesivo²⁵ resultando na formação da camada híbrida. Esse mecanismo seria ideal se os monômeros resinosos substituíssem de forma completa e estável a porção inorgânica da dentina²⁷. Entretanto, a porção de dentina desmineralizada pode não ser completamente infiltrada pelos agentes adesivos^{13,27} ocorrendo assim o déficit hibridizatório. Além disso, o material resinoso presente na camada híbrida pode sofrer hidrólise^{8,13}. Esses dois fatores contribuem para a degradação da união e conseqüente redução das propriedades mecânicas da interface adesiva, resultando em valores mais baixos de resistência de união ao longo do tempo^{4,5}.

Enzimas proteolíticas denominadas metaloproteinases (MMPs) estão envolvidas nesse processo de degradação das fibras colágenas desprotegidas^{13, 19} e podem ser ativadas por pHs baixos²⁴, associados ao processo carioso e ao condicionamento ácido da dentina. Isso tem motivado o uso de substâncias com potencial de inibir essas enzimas na tentativa de, assim, preservar a união adesiva. O digluconato de clorexidina é, sem dúvida, o agente mais pesquisado^{4,5,6,14,16}, mas há indícios de que outras substâncias, tais como o cloreto de benzalcônio²³, galardin³ e tetraciclinas²¹, possam também exercer esse efeito de inibição de MMPs.

As tetraciclinas por apresentarem a capacidade de bloquear e inibir metaloproteinases^{11,12} vêm sendo utilizadas há alguns anos em outras áreas da odontologia, especialmente na periodontia, com relativa segurança^{9,22}. Recentemente, a doxiciclina (tetraciclina semi-sintética) foi incorporada, de forma experimental, ao cimento ionomérico a fim de exercer seu efeito inibidor de MMPs na dentina alterada pela lesão de cárie⁷. Ainda que reconhecidamente eficaz, sua aplicação prévia ao procedimento adesivo, com a finalidade de preservar a união, ainda é incipiente²¹ e, portanto, os critérios relacionados a concentração, tempo de aplicação e pH ainda são desconhecidos.

Considerando que as soluções de tetraciclina possuem pH ácido entre 1,6 e 3,8¹⁵ e que as MMPs podem ser ativadas por baixos pHs, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito imediato da aplicação da doxiciclina com diferentes pHs na

resistência de união à dentina de sistema adesivo com condicionamento ácido prévio. As hipóteses nulas testadas foram: a) a resistência de união de um sistema adesivo com condicionamento ácido prévio não é influenciada pela aplicação, após o condicionamento ácido, da doxiciclina, b) o pH da solução de doxiciclina não influencia os valores de RU.

Materiais e métodos

Seleção dos dentes e preparo

Após aprovação do protocolo da pesquisa pelo Comitê de Ética (CAAE 0290.0.243.000-10) vinte molares humanos permanentes hígidos foram selecionados, limpos e armazenados em solução com cloramina T 0,5% pelo período mínimo de 30 dias. Os dentes foram seccionados a fim de obterem-se superfícies planas de dentina (terço médio da coroa) e a superfície dentinária exposta foi abrasionada manualmente em lixa de carbeto de silício, granulação 600, por 60 segundos para padronização da camada de lama dentinária formada.

Os espécimes obtidos foram divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais (n=5) de acordo com o tratamento da dentina após a realização do condicionamento ácido: 1) Doxiciclina pH neutro – Solução de hidrato de doxiciclina a 10%, pH 6; 2) Doxiciclina pH ácido – Solução de cloridrato de doxiciclina a 10%, pH 3; 3) Clorexidina – Solução de digluconato de clorexidina a 2%; 4) Controle – nenhum tratamento após o condicionamento ácido.

Procedimento adesivo e restaurador

O mesmo protocolo foi utilizado para todos os grupos experimentais e realizado por um único operador. O sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foi utilizado e aplicado de acordo com as instruções do fabricante (Quadro 1).

Após o condicionamento ácido, os espécimes foram tratados de acordo com o grupo a que pertenciam, sendo as soluções de doxiciclina e clorexidina aplicadas com aplicador do tipo *microbrush* e deixadas em contato com a superfície por 60 segundos com posterior remoção do excesso com papel absorvente. Os espécimes do grupo controle não receberam nenhum tipo de tratamento após o condicionamento ácido da dentina. Em seguida foram restaurados com incrementos de resina composta (Z100, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) de aproximadamente 1,5 mm de espessura cada e fotoativados individualmente por 40 segundos (fonte de luz Led, comprimento de onda de 420nm a 480nm - fotopolimerizador Emitter C ,Schuster, Santa Maria, RS, Brasil), totalizando cerca de 4,5 mm.

Após armazenamento em água destilada a 37° C por 24 horas, os espécimes foram seccionados, longitudinalmente, com disco diamantado em máquina de corte (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) a fim de se obterem espécimes em forma de “palitos” com área de secção transversal de aproximadamente 0,9 mm². O número de “palitos” perdidos durante os procedimentos prévios a realização do ensaio de tração foram anotados e estes foram considerados como falhas pré-teste (FPT).

Os espécimes foram colados a dispositivos metálicos (Odeme prod. Med. Odont., Joaçaba, SC, Brasil) com cola a base de cianoacrilato (Zap gel, Pacer Technologies, Rancho Cucamong, CA, EUA) e submetidos a ensaio de tração em máquina universal (Emic DL 2000, São José dos Pinhais, SC, Brasil) com velocidade de 1mm/min. Após, os espécimes foram avaliados em estereomicroscópio com 150x de aumento (Stereo Discovery V20, Zeiss, Göttingen, Germany) para classificação do modo de fratura: coesiva (exclusivamente em dentina ou resina composta) ou adesiva/mista (falha envolvendo a interface resina/dentina incluindo ou não os substratos adjacentes).

Análise estatística

Os valores de RU (em MPa) de todos os espécimes (“palitos”) de cada dente foram considerados para o cálculo do valor de RU de cada unidade experimental (dente). As FPT e espécimes com fraturas coesivas não foram incluídas na análise estatística. Os dados de cada grupo foram submetidos à Análise de Variância de 1

fator (tratamento após condicionamento ácido) e teste de Tukey para contraste entre as médias, dado que os testes de Kolmogorov-Smirnov e de Levène confirmaram a normalidade da distribuição e homogeneidade de variâncias. O nível de significância de 5% foi utilizado em todas as análises que foram realizadas com auxílio do programa Minitab versão 16.0 (Minitab Inc, State College, PA, EUA).

Resultados

Os resultados obtidos no ensaio de RU, bem como o percentual de FPT para os grupos experimentais são apresentados na Tabela 1. A análise de variância não apontou diferença significativa ($p=0,093$) para o fator testado (tratamento), ou seja, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Pode-se perceber, no entanto, uma tendência de maiores valores de resistência de união para o grupo tratado com solução de doxiciclina em pH neutro, mas também com maior variabilidade (Gráfico 1).

Discussão

A utilização de substâncias inibidoras de MMPs vem ganhando importante papel na tentativa de preservação da união adesiva, visto que essas proteases são responsáveis por uma parte da degradação que ocorre na união ao longo do tempo^{5,6,14,19}. Essas enzimas podem ser ativadas quando a dentina é demineralizada, seja pelo condicionamento ácido ou processo carioso, contribuindo para a degradação da matriz de colágeno na patogênese da cárie²⁴ e da doença periodontal¹.

As tetraciclinas quimicamente modificadas, dentre elas a doxiciclina, são capazes de inibir tanto a atividade quanto a síntese de MMPs. A ação das tetraciclinas sobre as MMPs é explicada pela quelação de íon zinco no sítio de ligação da enzima, resultando na ruptura da conformação normal da estrutura proteica, assim bloqueando a atividade catalítica da enzima¹⁰.

Considerando a sua já demonstrada ação na inibição de MMPs^{11,12} e as recentes sugestões de uso como agente de preservação da união adesiva, investigou-se o efeito da doxiciclina na RU imediata de um sistema adesivo convencional aplicado à dentina hígida, bem como, a possível interferência do pH da solução. A clorexidina foi incluída na comparação, dado ser a primeira substância sugerida para inibição de MMPs e pelo número expressivo de estudos já existentes^{4,5,6,14,20}.

Os resultados não mostraram diferença significativa nos valores de resistência de união imediata obtidos entre as substâncias utilizadas (doxiciclina ácida, doxiciclina neutra e clorexidina) e o grupo controle, o que poderia ser esperado visto os resultados de estudos que utilizaram outras substâncias inibidoras, como o cloreto de benzalcônio²³ e o galardin³ que também não apresentaram diferença comparadas ao controle, assim como a doxiciclina em outro estudo²¹. Isso denota que a doxiciclina não possui efeito prejudicial à resistência de união imediata, assim como a clorexidina que já apresenta resultados satisfatórios^{2,4,5,14,20}. Apesar de valores de RU imediata similares, maior percentual de FPT foi encontrado para o grupo clorexidina e menor para o grupo controle. Isso pode estar relacionado a necessidade de uma etapa adicional no procedimento de adesão, o que pode aumentar a complexidade da sequência de aplicação do sistema adesivo. Os grupos doxiciclina (ácida ou neutra) também apresentaram maior percentual de FPT comparados ao grupo controle.

A clorexidina, substância mais pesquisada como inibidora de MMPs na união dentinária, apresenta resultados satisfatórios^{4,5,6,14,16}, entretanto já foram apontados efeitos citotóxicos nas células pulpares, o que se pronuncia com o aumento da concentração¹⁷. Assim, é importante avaliar outras substâncias, como o hiclato de doxiciclina que não demonstra efeitos prejudiciais as células pulpares⁷ e pode apresentar maior efeito na inibição da degradação do colágeno que a clorexidina¹⁸.

A doxiciclina é originalmente uma substância que, quando dissolvida em solução, tem pH ácido por volta de 2,2¹⁵. A acidez da solução pode ser um fator de preocupação quando da sua aplicação na dentina após o condicionamento ácido, dado que esta já foi previamente desmineralizada e talvez maior perda mineral possa ocorrer e assim, as discrepâncias entre a dentina desmineralizada e aquela infiltrada pelos monômeros resinosos podem ser maiores, influenciando negativamente a estabilidade da união. No entanto, nenhum efeito negativo da

aplicação da doxíciclina na RU imediata foi percebido, independente do pH da solução. É evidente, entretanto, que os resultados do presente estudo devam ser considerados como preliminares, já que o efeito esperado na preservação da união e também possíveis conseqüências negativas somente são possíveis de serem avaliadas em estudos de longo prazo.

Todavia, parece ser promissora a possibilidade da inibição de MMPs combinada a ação antimicrobiana da doxíciclina como agente auxiliar na preservação da união adesiva. Especialmente quando considerado seu uso em dentina cariada ou alterada pela lesão de cárie, o qual representa substrato clínico mais comum, no qual as MMPs podem ser ativadas não apenas em decorrência dos procedimentos restauradores, mas também pela progressão da lesão de cárie.

Conclusão

As soluções de doxíciclina, tanto com pH ácido quanto com pH neutro, não demonstraram efeito prejudicial a resistência de união imediata à dentina, podendo ser uma substância promissora para a inibição de metaloproteinases na união dentinária.

Relevância clínica

A doxíciclina é uma substância reconhecidamente inibidora de metaloproteinases e vem mostrando segurança na sua utilização, podendo ter efeito benéfico na longevidade da união adesiva, necessitando estudos que avaliem seu desempenho, pois os critérios para sua utilização com esta finalidade ainda são desconhecidos.

Referências bibliográficas

1. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol* 1993;64:474-484.
2. Breschi L, Cammelli F, Visintini E, Mazzoni A, Vita F, Carrilho M, Cadenaro M, Foulger S, Mazzoti G, Tay FR, Lenarda RD, Pashley D. Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. *J Adhes Dent* 2009;11:191-198.
3. Breschi L, Matin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, Visintini E, Cadenaro M, Tay FR, Dorigo EDS, Pashley DH. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater* 2010b;26:571-578.
4. Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjäderhane L, Ruggeri Jr A, Tay FR, Dorigo EDS, Pashley DH. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: A 2-year in vitro study. *Dent Mater* 2010a;26:320-325.
5. Carrilho MRO, Carvalho RM, de Goes MF, Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Tjäderhane L. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res* 2007a;86:90-94.
6. Carrilho MRO, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, Reis AF, Hebling J, Mazzoni A, Breschi L, Pashley D. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res* 2007b;86:529-533.
7. Castilho ARF, Duque C, Negrini TC, Sacono NT, Paula AB, Sacramento PA, Souza Costa AC, Spolidorio DMP, Puppin-Rontani RM. Mechanical and biological characterization of resin-modified glass-ionomer cement containing doxycycline hyclate. *Arch Oral Biol* 2011, doi:10.1016/j.archoralbio.2011.08.009 2011.
8. De Munck L, 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* 2003;82:136-140.
9. Eickholz P, Kim TS, Bürklin T, Schacher B, Renggli HH, Schaecken MT, Holle R, Kübler A, Ratka-Krüger P. Non-surgical periodontal therapy with adjunctive topical doxycycline: a double-blind randomized controlled multicenter study. (I). Study design and clinical results. *J Clin Periodontol* 2002; 29:108-117.

10. Golub LM, Lee HM, Ryan ME. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res* 1998;12:12-26.
11. Grenier D, Plamondon P, Sorsa T, Lee H-M, McNamara T, Ramamurthy NS, Golub LM, Teronen O, Mayrand D. Inhibition of Proteolytic, Serpinolytic, and Progelatinase-B activation activities of periodontopathogens by doxycycline and the non-antimicrobial chemically modified tetracycline derivatives. *J Periodontol* 2002;73:79-85.
12. Hanemaaijer R, Visser H, Koolwijk P, Sorsa T, Salo T, Golub LM, van Hinsbergh VWM. Inhibition of MMP Synthesis by Doxycycline and Chemically Modified Tetracyclines (CMTs) in Human Endothelial Cells. *Adv Dent Res* 1998;12:114-118.
13. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 2000;79:1385-1391.
14. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res* 2005;84:741-746.
15. James GM, Hokett SD. The effects of different tetracyclines on the dentin root surface of instrumented, periodontally involved human teeth: A comparative scanning electron microscope study. *J Periodontol* 1997;68:739-745.
16. Komori PCP, Pashley DH, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, de Goes MF, Wang L, Carrilho MR. Effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength to normal versus caries-affected dentin. *Oper Dent* 2009;34:157-165.
17. Lessa FCR, Aranha AMF, Nogueira I, Giro EMA, Hebling J, Costa CAS. Toxicity of chlorhexidine on odontoblast-like cells. *J Appl Oral Sci* 2010;18:50-58.
18. Osorio R, Yamauti M, Osorio E, Ruiz-Requena ME, Pashley DH, Tay FR, Toledano M. Zinc reduces collagen degradation in demineralized human dentin explants. *J Dent* 2011;39:148-153.
19. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83:216-221.

20. Ricci HA, Sanabe ME, de Souza Costa CA, Pashley J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci* 2010;118:411-416.
21. Stanislawczuk R, da Costa JA, Polli LG, Reis A, Loguercio AD. Effect of tetracycline on the Bond performance of etch-and-rinse adhesives to dentin. *Braz Oral Res* 2011; 25:459-465.
22. Stechmiller J, Cowan L, Schultz G. The role of doxycycline as a matrix metalloproteinase inhibitor for the treatment of chronic wounds. *Biol Res Nurs* 2010;11:336-344.
23. Tezvergil-Mutluay A, Murat Mutluay M, Gu L-s, Zhang K, Agee KA, Carvalho RM, Manso A, Carrilho M, Tay FR, Breschi L, Suh B-I, Pashley DH. The anti-MMP activity of benzalkonium chloride. *J Dent* 2011;39:57-64.
24. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto V-J, Laarmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *Dent Res* 1998;77:1622-1629.
25. Van Meerbeeck B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper dent* 2003;28:215-235.
26. Wang Y, Spencer P, Walker MP. Chemical profile of adhesive/caries-affected dentin interfaces using Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res* 2007;81A:279-286.
27. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res* 2003;82:141-145.

Quadro 1. Modo de aplicação e composição do sistema adesivo.

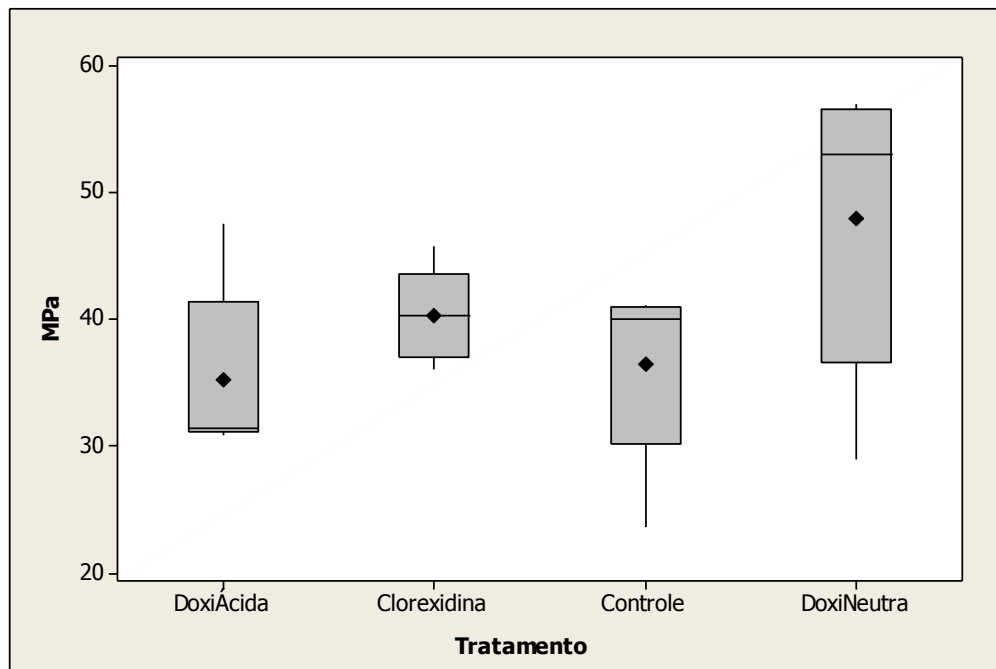
Produto (lote#)	Fabricante	Composição	Modo de aplicação
Adper Single Bond 2 (#1032600655)	3M/ESPE St. Paul, MN, EUA	Etanol, Bis-GMA, silano, HEMA, glicerol 1, 3 dimetacrilato, copolímero dos ácidos acrílico e itacônico, e diuretano dimetacrilato.	Aplique o condicionamento ácido, espere 15s e lave com abundância, remova o excesso de água com bolinha de algodão ou papel absorvente. Aplique duas camadas consecutivas de adesivo com o pincel saturado agitando gentilmente na superfície por 15s. Seque gentilmente para evaporar o solvente e fotopolimerize por 10s

Tabela 1. Valores médios de RU em MPa, desvios padrão para os grupos experimentais e porcentagem de falhas pré teste (%FPT).

Tratamento	RU (média±desvio-padrão)
Controle	36,4±7,43 ^a (3,33%)
Doxiciclina Ácida	35,2±7,09 ^a (15,31%)
Doxiciclina Neutra	47,9±11,73 ^a (17,9%)
Clorexidina	40,3±3,66 ^a (22,9%)

*Letras iguais indicam ausência de diferença estatisticamente significativa (p>0,05)

Gráfico 1. Distribuição dos valores de resistência de união em Mpa para cada grupo.



ARTIGO 2 - INFLUÊNCIA DA DOXICICLINA NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO À DENTINA DESMINERALIZADA DE DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES.

Este artigo será submetido à publicação na revista “*The Journal of Adhesive Dentistry*”.

Influência da doxiciclina na resistência de união à dentina desmineralizada de dentes decíduos e permanentes.

Héllen de Lacerda Oliveira

Aluna do Curso de Mestrado em Ciências Odontológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Executou a pesquisa como requisito parcial para o título de mestre. Telefone: (55) 8118 4320, e-mail: hellen.loli@gmail.com Rua Floriano Peixoto 1184, Sala 109, Santa Maria, RS.

Tamara Kerber Tedesco

Aluna de Doutorado, Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brasil. Auxiliou a realização da parte experimental da pesquisa e revisou o artigo. Telefone: (55) 3220 9291, e-mail: tatedesco@hotmail.com Rua Floriano Peixoto 1184, Sala 109, Santa Maria, RS.

Fabio Zovico Soares

Professor substituto, Departamento de Odontologia Restauradora, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Supervisionou a realização da parte experimental da pesquisa e revisou o artigo. Telefone: (55) 3220 9291, e-mail: fzovico@ajato.com.br Rua Floriano Peixoto 1184, Sala 109, Santa Maria, RS.

Rachel de Oliveira Rocha

Professora adjunta, Departamento de Estomatologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Definiu as hipóteses, delineamento experimental, análise estatística, revisou e corrigiu o artigo. Telefone: (55) 3220 9291, e-mail: rarocho@usp.br Rua Floriano Peixoto 1184, Sala 109, Santa Maria, RS.

Correspondência:

Héllen de Lacerda Oliveira

Rua Floriano Peixoto 1184, Sala 109, Santa Maria, RS.

Telefone: 0xx55 81184320

e-mail: hellen.loli@gmail.com

Palavras chave: Doxiciclina, clorexidina, metaloproteinases, resistência de união.

Resumo

Objetivo: Avaliar a influência da doxiciclina na resistência de união (RU) à dentina hígida e desmineralizada em dentes decíduos e permanentes.

Materiais e métodos: Superfícies planas de dentina de 60 molares (30 permanentes e 30 decíduos) foram obtidas e os dentes divididos em 12 grupos experimentais (n=5) de acordo com: o tratamento da superfície após condicionamento ácido - CHX (clorexidina a 2% por 60s), DOX (doxiciclina a 10% por 60s) e CTROL (controle – nenhum tratamento) e condição do substrato- hígido (HÍG) ou desmineralizado (DES). Os dentes pertencentes ao grupo desmineralizado foram obtidos a partir de desafio cariogênico por meio da ciclagem de pH. Blocos de resina composta foram confeccionados após a aplicação do sistema adesivo, decorrido 24h de armazenamento a 37°C, os espécimes foram seccionados para a obtenção de “palitos” com área de secção transversal de 0,9mm² os quais foram submetidos a ensaio de tração (velocidade de 1mm/min). Os valores médios de RU em MPa foram submetidos a Análise de Variância de dois fatores e teste de Tukey ($\alpha=0,05$), considerando separadamente dentes decíduos e permanentes.

Resultados: Os valores de RU foram similares para todos os grupos experimentais quando o fator tratamento foi considerado. Já a condição do substrato influenciou de forma significativa os valores de RU, sendo estes menores quando da dentina desmineralizada tanto para decíduos quanto para permanentes. **Conclusão:** A doxiciclina não altera a união de sistema adesivo com condicionamento ácido prévio à dentina de dentes decíduos e permanentes. Os resultados obtidos apontam para a necessidade de estudos em substrato desmineralizado, pois suas características interferiram negativamente nos valores de resistência de união.

Introdução

A longevidade de restaurações adesivas pode ser comprometida pela deterioração da união resina/dentina, que está associada à sorpção de água, eluição dos monômeros não polimerizados e hidrólise das cadeias poliméricas, eventos que ocorrem sucessivamente após o procedimento adesivo²⁷.

Essa deterioração está relacionada a hidrólise da resina presente na camada híbrida e a degradação das fibras colágenas^{11,16,22}, como consequência da insuficiente infiltração dos monômeros resinosos hidrofílicos na matriz dentinária desmineralizada, que pode ser, em parte, responsável pelo déficit hibridizatório e maior suscetibilidade a degradação^{5,15}.

A degradação das fibras colágenas ocorre possivelmente pela ação de enzimas proteolíticas endógenas presentes na matriz dentinária, tais como as metaloproteinases (MMPs)^{9,18,22}, ativadas durante o procedimento restaurador, tanto no momento do preparo da dentina como no condicionamento do substrato. As MMPs também estão envolvidas na patogênese da cárie³¹ e da doença periodontal², sendo responsáveis pela degradação da matriz orgânica da dentina desmineralizada pela lesão de cárie³¹. Deste modo, a possibilidade de inibir MMPs, pelo uso de substâncias sintéticas, com intuito de preservar a união resina-dentina e ainda paralisar a lesão de cárie tem sido objeto de interesse nos últimos anos.

O digluconato de clorexidina (CLX) vem sendo pesquisado há alguns anos como substância potencialmente inibidora de MMPs da matriz dentinária em substrato hígido e afetado, tanto em dentes decíduos quanto permanentes^{8,9,18,19} com resultados bastante promissores. Entretanto outras substâncias são sugeridas para essa finalidade, por apresentarem potencial semelhante ou até mesmo superior a CLX na inibição de MMPs e preservação da união dentinária. Cloreto de benzalcônio³¹, galardin⁴ e tetraciclinas sintéticas²⁸ são algumas das substâncias que têm sido avaliadas em estudos sobre a preservação da união resina/dentina.

As tetraciclinas apresentam potencial inibidor de MMPs já evidenciado na literatura, especialmente na área de Periodontia^{1,25}. Estudos da cinética enzimática sugerem que a doxiciclina é uma das tetraciclinas mais potentes na inibição de MMPs^{6,13}. Embora poucos estudos tenham avaliado o seu papel na matriz dentinária²¹ ou preservação da união adesiva²⁸, os resultados são promissores em

comparação a clorexidina por apresentarem laboratorialmente valores similares de resistência de união²⁸ e superiores quanto à modulação da atividade de MMPs²¹. Além do alto potencial de inibição de MMPs, a doxiciclina ainda apresenta efeito antibacteriano contra microorganismos envolvidos na patogênese da cárie, como *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* e alguns *Lactobacillus*, sem apresentar efeitos tóxicos às células pulpares¹⁰, o que pode ser particularmente vantajoso em substrato de dentina cariada/afetada. No entanto, esse substrato não foi contemplado até o presente momento, dado que os estudos de Osorio et al. (2011) e Stanislavsk et al. (2011) avaliaram sua aplicação somente sobre dentina hígida, a qual apresenta composição e estrutura distinta daquela já alterada pela lesão de cárie (desmineralizada).

Considerando a importância de investigações acerca do uso de substâncias inibidoras de MMPs em substrato de dentina desmineralizada, o objetivo do estudo foi avaliar a influência da aplicação da solução de hidrato de doxiciclina na resistência de união à dentina desmineralizada de dentes decíduos e de dentes permanentes. A hipótese nula considerada foi a que não há diferença nos valores de resistência de união em função da aplicação de substâncias inibidoras de MMPs independente da condição da dentina (hígida ou desmineralizada).

Materiais e métodos

Após aprovação do protocolo da pesquisa pelo Comitê de Ética (CAAE 0290.0.243.000-10) 60 molares humanos hígidos (30 decíduos e 30 permanentes) exfoliados ou extraídos foram selecionados. Os dentes foram limpos e armazenados em solução com cloramina T 0,5% pelo período mínimo de 30 dias.

Os dentes foram aleatoriamente divididos em 12 grupos (n=5) de acordo com o tratamento da superfície dentinária após o condicionamento (DOX, CLX, CTROL) e condição do substrato (HÍG ou DES).

Preparo dos espécimes

A porção radicular/cervical dos dentes foi embutida em resina acrílica autopolimerizável (Jet, Clássico, São Paulo, SP, Brasil) até cerca de 2mm abaixo da junção cimento-esmalte para facilitar a manipulação. A fim de facilitar o embutimento dos dentes decíduos, a câmara pulpar foi preenchida com resina composta e um bloco de resina foi construído na porção radicular²⁶.

Após o embutimento dos dentes, o esmalte oclusal foi removido com disco diamantado em máquina de corte (Labcut 1010, Extec Co, Enfield, CA, EUA) a fim de expor uma superfície dentinária plana, aproximadamente na metade da coroa clínica do dente. O esmalte circundante à dentina foi removido com ponta diamantada #2215 (KG Sorencen, Cotia, SP, Brasil) em alta rotação e sob irrigação constante. A dentina oclusal exposta foi abrasionada manualmente com lixa de carbeto de silício de granulação 600 por 60 segundos para a obtenção de uma camada de lama dentinária padronizada.

Substrato de dentina desmineralizada

Os dentes pertencentes ao grupo substrato desmineralizado foram submetidos a desafio cariogênico por meio de ciclagem de pH. Os mesmos tiveram a porção cervical selada com duas camadas de esmalte ácido-resistente (esmalte coméstico Colorama, São Paulo, SP, Brasil) até cerca de 2 milímetros da superfície de dentina exposta. Em seguida, foram submetidos individualmente a 14 ciclos de imersão, por 8 horas em 10 mililitros de solução desmineralizadora (2,2 mM de CaCl_2 , 2,2 mM de NaH_2PO_4 , 0,05 M de ácido acético, pH ajustado de 4,5 com 1M de KOH) e por 16 horas em volume idêntico de solução remineralizadora (1,5 mM de CaCl_2 , 0,9 mM de NaH_2PO_4 , 0,15 mM de KCl, pH igual a 7,0), em temperatura ambiente e sem agitação³⁰.

Procedimento adesivo e restaurador

O mesmo protocolo foi utilizado para todos os grupos experimentais e realizado por um único operador. O sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foi aplicado de acordo com as instruções do fabricante (Tabela 1).

Após o condicionamento ácido, a dentina foi tratada com uma das soluções testadas: solução de hiclato de doxiciclina a 10% (pH 6), ou solução de digluconato de clorexidina a 2%, aplicadas com aplicador do tipo *microbrush*, e deixadas em contato com a superfície por 60 segundos com posterior remoção do excesso de solução com papel absorvente. Os espécimes do grupo controle não receberam nenhum tipo de tratamento após condicionamento ácido da dentina.

.Em seguida foram restaurados com incrementos de resina composta (Z100, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) de aproximadamente 1,5 mm de espessura cada e fotoativados individualmente por 40 segundos (fonte de luz Led, comprimento de onda de 420nm a 480nm - fotopolimerizador Emitter C, Schuster, Santa Maria, RS, Brasil), totalizando cerca de 4,5 mm, com posterior armazenamento em água destilada a 37°C por 24 horas. Os espécimes foram então seccionados longitudinalmente, com disco diamantado em máquina de corte (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) a fim de se obterem “palitos” com área de secção transversal de aproximadamente 0,9 mm², os quais foram submetidos a ensaio de tração (velocidade de 1 mm/min) em máquina universal de ensaios (DL 2000, Emic, São José dos Pinhais, PR, Brasil).

Após a realização do ensaio de tração, os espécimes foram analisados em estereomicroscópio (150x) a fim de determinar o tipo de fratura: coesiva (exclusivamente em dentina ou resina composta) ou adesiva/mista (fratura envolvendo a interface resina/dentina incluindo ou não os substratos adjacentes). Somente os espécimes que apresentarem fratura adesiva/mista foram considerados no cálculo de resistência de união.

Os valores médios de resistência de união em MPa foram submetidos à Análise de Variância com 2 fatores (tratamento após condicionamento ácido e condição do substrato) e teste de Tukey para contraste entre as médias, dado que os testes de Kolmogorov-Smirnov e de Levène confirmaram a normalidade da distribuição e homogeneidade de variâncias, sendo o dente considerado como

unidade experimental. O nível de significância de 5% foi utilizado em todas as análises realizadas utilizando o programa de estatística Minitab Versão 16.0 (Minitab Inc, State College, PA, EUA).

Resultados

Os dados obtidos para cada grupo experimental são mostrados na Tabela 2. A análise de variância (Tabelas 3 e 4) mostrou que o uso de inibidores de metaloproteinases (doxiciclina e clorexidina) não influenciou a resistência de união imediata do sistema adesivo, independentemente do substrato ($p=0,785$ e $p=0,200$, para decíduo e permanente, respectivamente). No entanto, a condição do substrato (desmineralizado) reduziu significativamente os valores de resistência de união em aproximadamente 43% para a dentina de dentes decíduos e 46% para a de permanentes.

O percentual de falhas pré-teste observadas variou entre 3,3% e 22,9% distribuídas entre os grupos de dentes permanentes, exceto o grupo controle/substrato desmineralizado que não apresentou falhas prematuras. Já para espécimes de dentina decídua, somente os grupos controle/substrato hígido e doxiciclina/substrato hígido apresentaram falhas pré-teste, em percentuais de 3,4% e 14,3%, respectivamente.

Discussão

A degradação enzimática tem um significativo papel na deterioração da união resina-dentina^{16,18,22}, bem como na progressão da lesão cáriosa em dentina^{29,32}, assim o controle das enzimas responsáveis por esses processos (MMPs) é extremamente importante para a preservação da união adesiva, especialmente em dentina afetada/alterada pela lesão de cárie. Embora a clorexidina seja apontada por diversas pesquisas^{3,8,9,18,19} como agente de preservação da união adesiva, é válido avaliar o desempenho de outras substâncias que possam apresentar efeito

semelhante ou superior, tais como os derivados da tetraciclina, dentre os quais a doxiciclina, que parece ter efeito superior a clorexidina na inibição da degradação do colágeno²¹. Essa característica é indicativa de que a doxiciclina e outras tetraciclinas modificadas quimicamente, possam ser úteis em aumentar a longevidade da união dentina/resina, além de atuarem na redução da progressão da lesão de cárie em dentina, também mediada, em parte, por MMPs²⁹.

Os resultados do presente estudo mostraram que a aplicação das substâncias inibidoras de MMPs não prejudicou a resistência de união imediata tanto em substrato de dentes decíduos quanto de permanentes. Este resultado é relevante, pois qualquer modificação proposta no protocolo adesivo não deve alterar os valores imediatos de resistência de união, sendo este um importante parâmetro de avaliação da adesão de materiais restauradores²³. Estudo anterior²⁸ também não encontrou influência negativa da aplicação de solução de doxiciclina comparada a clorexidina na RU ou no padrão de nanoinfiltração.

Apesar dos resultados animadores, esses devem ser considerados iniciais dada a necessidade de estudos futuros para elucidar se a ação da doxiciclina é duradoura e se interfere positivamente na preservação da união, além da sua interação com as diversas composições dos sistemas adesivos, incluindo os autocondicionantes.

Considerando a condição do substrato - hígido ou desmineralizado, os resultados apontaram que as diferenças da dentina desmineralizada comparada a hígida resultam em menores valores de resistência de união, em consonância com outros estudos que vêm demonstrando este fenômeno^{12,19}. Assim, a hipótese nula testada foi parcialmente rejeitada, pois não houve diferença entre as substâncias inibidoras de MMPs utilizadas, mas o tipo de substrato hígido ou desmineralizado influenciou os valores de resistência de união imediata.

O desempenho inferior do sistema adesivo na dentina desmineralizada pode estar relacionado a diferenças morfológicas entre a dentina hígida e a que sofreu perda mineral, como o tamanho e a forma dos cristais de fosfato de cálcio que se tornam menos solúveis que a apatita normal, principalmente na região de dentina intratubular, devido aos ciclos repetidos de desmineralização e remineralização²⁰. Em contrapartida outras regiões da dentina afetada por cárie apresentam menor conteúdo mineral que a dentina hígida, favorecendo a difusão dos agentes de condicionamento ácido e consequente maior exposição de colágeno nessa região³³.

Essas diferenças na composição mineral das regiões de dentina afetada provocam uma camada que é parcialmente desmineralizada pelo condicionamento ácido o que dificulta a penetração homogênea dos monômeros adesivos³³, podendo levar a diferentes padrões de hibridização, tais como diferentes espessuras e extensões dos *tags*³⁴.

As diferenças entre dentina cariada/alterada e hígida reforçam ainda mais a necessidade de avaliação do substrato afetado ou desmineralizado, já que pode haver influência direta no desempenho dos sistemas adesivos. Entretanto a principal dificuldade em se avaliar o substrato desmineralizado está na ampla variedade de forma e profundidade das lesões naturais, o que dificulta a obtenção de superfícies planas adequadas para a execução dos testes de resistência de união, justificando a utilização de protocolos para o desenvolvimento laboratorial de lesões, obtendo-se superfícies dentinárias mais padronizadas.

Ainda assim, a maioria dos estudos que avaliam substâncias inibidoras de MMPs considera substrato de dentina hígida de dentes permanentes^{3,4,8,9}, com poucas avaliações em dentina alterada/afetada por cárie¹⁹. Este é um substrato relativamente comum quando são considerados dentes decíduos^{18,24}, embora o número de estudos seja muito menor que os realizado em dentes permanentes. A preservação da união adesiva é necessária independente do tipo de dente (decíduo ou permanente), pois já foi demonstrado haver degradação da união adesiva^{16,17,22} e espera-se tanto para dentes decíduos como permanentes, restaurações duradouras. Assim, incluiu-se os dois substratos no presente estudo, embora analisados separadamente.

Conclusão

Pode-se inferir que a utilização do hiclato de doxiciclina não altera a união de um sistema adesivo com condicionamento ácido prévio à dentina de dentes decíduos e permanentes. Além disso, os resultados reforçam a necessidade da inclusão do substrato desmineralizado em estudos futuros já que suas características interferem negativamente nos valores de resistência de união obtidos.

Relevância clínica

Diferentes substâncias inibidoras de MMPs devem ser avaliadas a fim reduzir a degradação da união adesiva e inibir microorganismos da lesão cariiosa, principalmente em substrato desmineralizado/afetado que é mais semelhante a realidade clínica.

Referências bibliográficas

1. Agan S, Sönmez S, Serdar M. The effect of topical doxycycline usage on gingival crevicular fluid MMP-8 levels of chronic and aggressive periodontitis patients: a pilot study. *Int J Dent Hygiene* 2006;4:114-121.
2. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol* 1993;64:474-484.
3. Breschi L, Cammelli F, Visintini E, Mazzoni A, Vita F, Carrilho M, Cadenaro M, Foulger S, Mazzoti G, Tay FR, Lenarda RD, Pashley D. Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. *J Adhes Dent* 2009;11:191-198.
4. Breschi L, Matin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, Visintini E, Cadenaro M, Tay FR, Dorigo EDS, Pashley DH. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater* 2010;26:571-578.
5. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, Dorigo EDS. Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater* 2008;24:90-101.
6. Burns FR, Stack MS, Gray RD, Parerson CA. Inhibition of purified collagenase from alkali-burned rabbit corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:1569-1575.
7. Burrow MF, Nopnakeepong U, Phrukkanon S. A comparison of microtensile bond strengths of several dentin bonding systems to primary and permanent dentin. *Dent Mater* 2002;18:239-245.
8. Carrilho MRO, Carvalho RM, de Goes MF, Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Tjäderhane L. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res* 2007a;86:90-94.
9. Carrilho MRO, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, Reis AF, Hebling J, Mazzoni A, Breschi L, Pashley D. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res* 2007b;86:529-533.
10. Castilho ARF, Duque C, Negrini TC, Sacono NT, Paula AB, Sacramento PA, Souza Costa AC, Spolidorio DMP, Puppim-Rontani RM. Mechanical and biological characterization of resin-modified glass-ionomer cement containing doxycycline hyclate. *Arch Oral Biol* 2011, doi:10.1016/j.archoralbio.2011.08.009 2011.

11. De Munck L, 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* 2003;82:136-140.
12. Erhardt MCG, Toledano M, Osorio R, Pimenta LA. Histomorphologic characterization and Bond strength evaluation of caries-affected dentin/resin interfaces: Effects of long-term water exposure. *Dent Mater* 2008;24:786-798.
13. Golub LM, Sorsa T, Lee H-M, Ciancio S, Sorbi D, Ramamurthy NS, Gruber B, Salo T, Konttinen YT. Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrixmetalloproteinases in human adult periodontitis gingiva. *J Clin Periodontol* 1995;22:100-109.
14. Haj-Ali R, Walker M, Williams K, Wang Y, Spencer P. Histomorphologic characterization of noncarious and caries-affected dentin/adhesive interfaces. *J Prosthodont* 2006;15:82-88.
15. Hashimoto M, Fujita S, Endo K, Ohno H. In vitro degradation of resin-dentin bonds with one-bottle self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci* 2009;117:611-617.
16. Hashimoto M, Fujita S, Nagano F, Ohno H, Endo K. Ten-years degradation of resin–dentin bonds. *Eur J Oral Sci* 2010;118:404–410.
17. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 2000;79:1385-1391.
18. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res* 2005;84:741-746.
19. Komori PCP, Pashley DH, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, de Goes MF, Wang L, Carrilho MR. Effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength to normal versus caries-affected dentin. *Oper Dent* 2009;34:157-165.
20. Nakajima M, Sano H, Urabe I, Tagami J, Pashley DH. Bond strengths of single-bottle dentin adhesives to caries-affected dentin. *Oper Dent* 2000;25:2-10.
21. Osorio R, Yamauti M, Osorio E, Ruiz-Requena ME, Pashley DH, Tay FR, Toledano M. Zinc reduces collagen degradation in demineralized human dentin explants. *J Dent* 2011;39:148-153.
22. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83:216-221.

23. Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, Fernandes CA, Tay F. The microtensile bond test: a review. *J Adhesive Dent* 1999;1:299-309.
24. Ricci HA, Sanabe ME, de Souza Costa CA, Pashley J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci* 2010;118:411-416.
25. Ryan ME, Ramamurthy S, Golub LM. Matrix metalloproteinases and their inhibition in periodontal treatment. *Curr Opin Periodontol* 1996;3:85-96.
26. Sardella TN, de Castro FLA, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *J Dent* 2005;33:355-362.
27. Spencer O, Ye Q, Park J, Topp EM, Misra A, Marangos O, Wang Y, Bohaty BS, Sing V, Sene F, Eslick J, Camarda K, Katz JL. Adhesive/dentin interface: The weak link in the composite restoration. *Ann Biomed Eng* 2010;38:1989-2003.
28. Stanislawczuk R, da Costa JA, Polli LG, Reis A, Loguercio AD. Effect of tetracycline on the Bond performance of etch-and-rinse adhesives to dentin. *Braz Oral Res* 2011; 25:459-465.
29. Sulkala M, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Teronen O, Salo T, Tjäderhane L. The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. *J Dent Res* 2001;80:1545-1549.
30. Ten Cate JM, Duijsters PPE. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1982; 16:201-210.
31. Tezvergil-Mutluay A, Murat Mutluay M, Gu L-s, Zhang K, Agee KA, Carvalho RM, Manso A, Carrilho M, Tay FR, Breschi L, Suh B-I, Pashley DH. The anti-MMP activity of benzalkonium chloride. *J Dent* 2011;39:57-64.
32. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto V-J, Laarmas M, Salo T. matrix The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *Dent Res* 1998;77:1622-1629.
33. Wang Y, Spencer P, Walker MP. Chemical profile of adhesive/caries-affected dentin interfaces using Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res* 2007;81A:279-286.
34. Xuan W, Ben-xiang H, Ya-lin L. Bond strength of different adhesives to normal and caries-affected dentins. *Chin Med J* 2010;123:332-336.

Tabela 1. Composição e modo de aplicação do sistema adesivo

Produto (lote#)	Fabricante	Composição	Modo de aplicação
Adper Single Bond 2 (#1032600655)	3M/ESPE St. Paul, MN, EUA	Etanol, Bis-GMA, silano, HEMA, glicerol 1, 3 dimetacrilato, copolímero dos ácidos acrílico e itacônico, e diuretano dimetacrilato.	Aplique o condicionamento ácido, espere 15s e lave com abundância, remova o excesso de água com bolinha de algodão ou papel absorvente. Aplique duas camadas consecutivas de adesivo com o pincel saturado agitando gentilmente na superfície por 15s. Seque gentilmente para evaporar o solvente e fotopolimerize por 10s

Tabela 2. Médias e desvios padrão de resistência de união para os diferentes grupos experimentais em MPa.

Permanente		
Condição do substrato		
Tratamento	Hígido	Desmineralizado
Controle	36,44±7,43 (1/30)	21,1±9,16 (0/30)
Doxiciclina	47,90±11,73 (7/39)	24,0±9,93 (2/37)
Clorexidina	40,29±3,66 (11/48)	22,4±7,73 (4/34)
Decíduo		
Condição do substrato		
Tratamento	Hígido	Desmineralizado
Controle	36,31±10,17 (1/29)	18,49±7,63 (0/26)
Doxiciclina	37,67±13,15 (5/35)	22,15±1,88 (0/26)
Clorexidina	35,64±6,63 (0/27)	22,01±4,71 (0/26)

FPT/n (FPT=Falhas pré-teste, n=número de corpos de prova)

Tabela 3. Análise de variância para os fatores tratamento da dentina e condição do substrato para dentes decíduos.

Source	DF	SS	MS	F	P
tratamento	2	31,74	15,87	0,24	0,792
condição	1	1839,42	1839,42	27,29	0,000
Interação	2	21,83	10,91	0,16	0,851
Erro	24	1617,59	67,40		
total	29	3510,59			

Tabela 4. Análise de variância para os fatores tratamento da dentina e condição do substrato para dentes permanentes.

Source	DF	SS	MS	F	P
tratamento	2	266,21	133,10	1,78	0,190
condição	1	2711,87	2711,87	36,28	0,000
interação	2	95,54	47,77	0,64	0,537
Erro	24	1793,87	74,74		
total	29	4867,48			

DISCUSSÃO

A odontologia adesiva atual ainda busca alternativas que prolonguem a longevidade das restaurações, principalmente em substrato dentinário. O surgimento da técnica de adesão úmida melhorou a qualidade das restaurações, mas trouxe consigo a introdução de monômeros hidrofílicos sujeitos a degradação por hidrólise, considerada uma das formas de deterioração da união adesiva (VAN MEERBEEK et al., 2003). Outra forma de deterioração vem sendo relacionada a enzimas endógenas proteolíticas, denominadas metaloproteinases (MMPs), que podem degradar as fibras colágenas que não foram totalmente envolvidas pelo material resinoso e permanecem assim suscetíveis a tal fenômeno (PASHLEY et al., 1999; DE MUNCK et al., 2003; HASHIMOTO et al., 2010). Estas mesmas enzimas estão envolvidas no processo de progressão da lesão cáriosa, quando podem ser expostas e reativadas, colaborando com a degradação da matriz dentinária (TJÄDERHANE et al., 1998).

Devido à ação das MMPs na degradação da matriz dentinária, estudos se valem de substâncias sintéticas inibidoras de MMPs para preservar a união adesiva. A maioria destes utiliza a clorexidina, tanto em substrato hígido (CARRILHO et al., 2007a; BRESCHI et al., 2009; BRESCHI et al., 2010b) quanto afetado (HEBLING et al., 2005; KOMORI et al., 2009; RICCI et al., 2010), enquanto um reduzido número avalia o desempenho de outras substâncias que possam apresentar efeito semelhante, como o galardin (BRESCHI et al., 2010a), o cloreto de benzalcônio (TEZVERGIL-MUTLUAY et al., 2011) e as tetraciclinas (STANISLAWCZUK et al., 2011), mas somente em substrato permanente e hígido.

A doxiciclina, que é uma tetraciclina modificada, vem se mostrando efetiva na inibição de MMPs (GRENIER et al., 2002; EICKHOLZ et al., 2002) e parece inibir a degradação de colágeno mais eficientemente que a clorexidina (OSORIO et al., 2011). Além disso, pode ser utilizada como agente antibacteriano contra microorganismos remanescentes na dentina alterada pela lesão de cárie (CASTILHO et al., 2011). Seu mecanismo de ação contra MMPs está relacionado à ruptura da conformação normal da estrutura protéica com conseqüente bloqueio da atividade catalítica da enzima (GOLUB et al., 1998). Já sua ação contra

microorganismos se associa a inibição de ribossomos procarióticos, afetando assim, somente os microorganismos e sendo segura para as células humanas (CHOPRA e ROBERTS, 2001). Dessa forma, estudos demonstram segurança na sua utilização local (EICKHOLZ et al., 2002; STECHMILLER et al., 2010; CASTILHO et al., 2011).

Estudos que fazem uso da solução de doxiciclina normalmente a utilizam em pH ácido (JAMES e STEVEN, 1997), pois esta parece ser a forma mais comum de obtenção dessa solução. Como diferenças no pH podem afetar a estrutura dental, é importante avaliar se o uso da solução ácida para inibição de MMP influencia a resistência de união, visando a viabilidade de sua utilização de modo geral. Embora os resultados (Artigo 1) não tenham demonstrado diferença estatística entre as soluções de doxiciclina ácida e neutra, provavelmente devido a capacidade tampão que o substrato dentinário apresenta (CAMPS e PASHLEY, 2000), nota-se que a solução neutra apresentou valores de RU mais elevados que a ácida. Além disso, a literatura trás informações quanto à substantividade de soluções de doxiciclina (DEMIREL et al., 1991; MORRISON et al., 1992). Assim, mesmo com os resultados encontrados para a RU imediata, devido a sua substantividade, pode ocorrer algum efeito a longo prazo, o que direcionou o estudo da solução neutra em diferentes substratos (permanente e decíduo, hígido e demineralizado) (Artigo 2).

Os resultados obtidos não mostraram diferença estatística significativa entre os grupos doxiciclina, clorexidina e controle tanto para dentes decíduos quanto permanentes, enquanto o substrato demineralizado apresentou menores valores de resistência de união. A condição de substrato mais relevante clinicamente pode ser considerada o afetado/desmineralizado, pois durante a realização dos preparos cavitários a remoção do tecido comprometido pela lesão de cárie está relacionada a critérios subjetivos (BANERJEE et al., 2000), implicando na adesão não somente ao substrato sadio, mas também aquele afetado ou até mesmo potencialmente infectado (YOSHIYAMA et al., 2002). Ainda, o substrato afetado/desmineralizado apresenta-se estruturalmente diferente do hígido com algumas regiões parcialmente desmineralizadas e outras com cristais ácido resistentes (NAKAJIMA et al., 2000; Wang 2007), o que pode ser responsável pelos menores valores de resistência de união encontrados para o substrato desmineralizado. Demais trabalhos corroboram tal achado (KOMORI et al., 2009; ERHARDT et al., 2008), evidenciando a necessidade da inclusão, sempre que possível, do substrato demineralizado/afetado, mesmo que em estudos laboratoriais.

A obtenção de altos valores de resistência de união imediata é muito relevante, já que modificações no protocolo adesivo não devem prejudicar o desempenho dos sistemas adesivos, pois isso reduziria ainda mais a longevidade da união. Dessa forma os resultados deste trabalho demonstram que a doxiciclina não afeta a resistência de união de dentes decíduos e permanentes para substrato hígido e desmineralizado e que parece não haver influência do pH da solução na resistência de união a dentes permanente hígidos. No entanto, avaliações longitudinais são necessários a fim de verificar os efeitos positivos ou mesmo negativos do uso dessa substância como agente de preservação da união adesiva.

CONCLUSÃO

A doxiciclina pode ser considerada uma substância promissora para utilização na preservação da união adesiva, dado que os resultados do presente estudo não evidenciaram efeito negativo da aplicação de solução de doxiciclina, independente do pH, na resistência de união de sistema adesivo com condicionamento ácido prévio à dentina de dentes decíduos e permanentes.

REFERÊNCIAS

ADDY, M. et al. Use of antimicrobial containing acrylic strips in the treatment of chronic periodontal disease. **Journal of Periodontology**, v.59, n.9, p.557-564, 1988.

AKALIN, F. A. et al. A comparative evaluation of the clinical effects of systemic and local doxycycline in the treatment of chronic periodontitis. **Journal of Oral Science**, v. 46, n.1, p. 25-35, 2004.

BANERJEE, A.; KIDD E.A.M.; WATSON T.F. In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. **Caries Research**, v.34, p.144-150, 2000.

BRACKETT W.W. et al. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers *in vivo*. **Operative Dentistry**, v.32, n.2, p.107-111, 2007.

BRESCHI, L. et al. Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v.11, n.3, p.191-198, 2009.

BRESCHI, L. et al. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. **Dental Materials**, v. 26, p.571-578, 2010a.

BRESCHI, L. et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: A 2-year in vitro study. **Dental Materials**, v.26, p.320-325, 2010b.

BUONOCORE, M.G. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. **Journal of Dental Research**, v.34, p.849-853, 1955.

BURNS, F.R. et al. Inhibition of purified collagenase from alkali-burned rabbit corneas. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.30, n.7, p.1569-1575, 1989.

CAMPS, J.; PASHLEY, D.H. Buffering action of humn dentin in vitro. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v.2, n.1, p.39-50, 2000.

CARRILHO, M.R.O. et al. Preserves dentin bond in vitro. **Journal of Dental Research**, v.86, n.1, p.90-94, 2007a.

CARRILHO, M.R.O. et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. **Journal of Dental Research**, v.86, n. 6, p.529-533, 2007b.

CASTILHO, A.R.F. et al. Mechanical and biological characterization of resin-modified glass-ionomer cement containing doxycycline hyclate. **Archives of Oral Biology**, doi:10.1016/j.archoralbio.2011.08.009 2011, 2011.

CHOPRA, I.A.N.; ROBERTS, M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. **Microbiology and molecular biology reviews**, v.65, n.2, p.232-260, 2001.

DALVI, P.S. et al. Effect of doxycycline in patients of moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease with stable symptoms. **Annals of Thoracic Medicine**, v.6, n.4, p.221-226, 2011.

DE MUNCK, L. et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. **Journal of Dental Research**, v.82, n.2, p.136-140, 2003.

DEMIREL, K.; BAER, P.N.; MCNAMARA, T.F. Topical application of doxycycline on periodontally involved root surfaces in vitro: Comparative analysis of substantivity on cementum and dentin. **Journal of Periodontology**, v.62, p.312-316, 1991.

EICKHOLZ, P. et al. Non-surgical periodontal therapy with adjunctive topical doxycycline: a double-blind randomized controlled multicenter study. (I). Study design and clinical results. **Journal of Clinical Periodontology**, v.29, p.108-117, 2002.

EMINIGIL, G. et al. The effect of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels in chronic periodontitis. **Journal of Periodontology**, v.75, n.1, p.106-115, 2004.

ERHARDT, M.C.G. et al. Histomorphologic characterization and Bond strength evaluation of caries-affected dentin/resin interfaces: Effects of long-term water exposure. **Dental Materials**, v.24, p.786-798, 2008.

FUKUOKA, A. et al. Hydrolytic stability of one-step self-etching adhesives bonded to dentin. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v.13, n.3, p.243-248, 2011.

GOLUB, L.M.; LEE, H.M.; RYAN, M.E. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. **Advances in Dental Research**, v.12, p.12-26, 1998.

GRENIER, D. et al. Inhibition of Proteolytic, Serpinolytic, and Progelatinase-B activation activities of periodontopathogens by doxycycline and the non-antimicrobial chemically modified tetracycline derivatives. **Journal of Periodontology**, v.73, n.1, p.79-85, 2002.

HANEMAAIJER R. et al. Inhibition of MMP synthesis by doxycycline and chemically modified tetracyclines (CMTs) in human endothelial cells. **Advances in Dental Research**, v.12, p.114-118, 1998.

HASHIMOTO, M. et al. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. **Journal of Dental Research**, v.79, p.1385-1391, 2000.

HASHIMOTO, M. et al. Ten-years degradation of resin-dentin bonds. **European Journal of Oral Sciences**, v.118, p.404-410, 2010.

HEBLING, J. et al. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. **Journal of Dental Research**, v.84, n.8, p.741-746, 2005.

JAMES, G.M.; HOKETT, S.D. The effects of different tetracyclines on the dentin root surface of instrumented, periodontally involved human teeth: A comparative scanning electron microscope study. **Journal of Periodontology**, v.68, p.739-745, 1997.

KOMORI, P.C.P. et al. Effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength to normal versus caries-affected dentin. **Operative Dentistry**, v.34, n.2, p.157-165, 2009.

LOKESHWAR, B.L. Chemically modified non-antimicrobial tetracyclines are multifunctional drugs against advanced cancers. **Pharmacological Research**, v. 63, n. 2, p.146-150, 2011.

MORRISON, S.L. et al. Root surface characteristics associated with subgingival placement of onolithic 46 tetracycline-impregnated fibers. **Journal of Periodontology**, n.63, p.137-143, 1992.

NAKAJIMA, M. et al. Bond strengths of single-bottle dentin adhesives to caries-affected dentin. **Operative Dentistry**, n.25, n.1, p.2-10, 2000.

OSORIO, R. et al. Zinc reduces collagen degradation in demineralized human dentin explants. **Journal of Dentistry**, n.39, p.148-153, 2011.

PALANIAPPAN, S. et al. Three-year randomized trial to evaluate the clinical performance and wear of a nanocomposite versus a hybrid composite. **Dental Materials**, n.25, p.1302-1314, 2009.

PASHLEY, D.H. et al. The microtensile bond test: a review. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v.1, n.4, p.299-309, 1999.

PASHLEY, D.H. et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. **Journal of Dental Research**, v.83, n.3, p.216-221, 2004;

POURTAGHI, N. et al. The effect of subgingival antimicrobial therapy on the levels of stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases in gingival crevicular fluid. **Journal of Periodontology**, v.67, n.9, p.866-870, 1996.

RICCI, H.A. et al. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. **European Journal of Oral Sciences**, v.118, p.411-416, 2010.

SINGH, L.P. et al. Doxycycline blocks gastric ulcer by regulating matrix metalloproteinase-2 activity and oxidative stress. **World Journal of Gastroenterology**, v.17, n.28, p.3310-3321, 2011.

STANISLAWCZUK, R. et al. Effect of tetracycline on the Bond performance of etch-and-rinse adhesives to dentin. **Brazilian Oral Research**, v.25, p.459-465, 2011.

STECHMILLER, J.; COWAN L.; SCHULTZ G. The role of doxycycline as a matrix metalloproteinase inhibitor for the treatment of chronic wounds. **Biological Research for Nursing**, v.11, n.4, p.336-344, 2010.

SULKALA, M. et al. The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. **Journal of Dental Research**, v.80, n.6, p.1545-1549, 2001.

TEZVERGIL-MUTLUAY, A. et al. The anti-MMP activity of benzalkonium chloride. **Journal of Dentistry**, v.39, p.57-64, 2011.

TJÄDERHANE, L. et al. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. **Dental Research**, v.77, p.1622-1629, 1998.

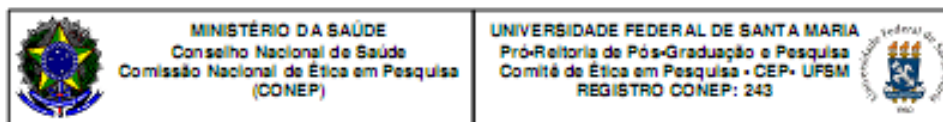
VAN MEERBEECK, B. et al. Buonocore memorial lecture Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. **Operative Dentistry**, v.28, p.215-235, 2003.

WANG, Y.; SPENCER, P.; WALKER, M.P. Chemical profile of adhesive/caries-affected dentin interfaces using Raman microspectroscopy. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v.81, p.279-286, 2007.

WENNSTRÖM, J.L. et al. Utilisation of locally delivered doxycycline in non-surgical treatment of chronic periodontitis: A comparative multi-centre trial of 2 treatment approaches. **Journal of Clinical Periodontology**, v.28, n.8, p.753-761, 2001.

YOSHIYAMA, M. Bonding of self-etch and total-etch adhesives to carious dentin. **Journal of Dental Research**, v.81, n.8, p.556-560, 2002.

Anexo A - Carta de aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa



CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS) analisou o protocolo de pesquisa:

Título: Potência da doxiciclina na preservação da união a dentina: avaliação de uma nova utilização do Fármaco.

Número do processo: 23081.015954/2010-40

CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética): 0290.0.243.000-10

Pesquisador Responsável: Rachel de Oliveira Rocha

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê. O pesquisador deve apresentar ao CEP:

Janeiro / 2012- Relatório final

Os membros do CEP-UFSM não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA REUNIÃO DE APROVAÇÃO: 22/11/2010

Santa Maria, 22 de Novembro de 2010.



Félix A. Antunes Soares
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa-UFSM
Registro CONEP N. 243.

Anexo B – Normas para publicação na revista “The Journal of Adhesive Dentistry”

The Journal of Adhesive Dentistry GUIDELINES FOR AUTHORS

The *Journal of Adhesive Dentistry* is a bi-monthly journal that publishes scientifically sound articles of interest to practitioners and researchers in the field of adhesion to hard and soft dental tissues. The Journal publishes several types of peer-reviewed original articles:

1. **Clinical and basic science research reports** – based on original research in adhesive dentistry and related topics.
2. **Reviews** – on topics related to adhesive dentistry
3. **Short communications** – of original research in adhesive dentistry and related topics. Max. 2 printed pages, including figures and references. High priority will be given to the review of these papers to speed publication.
- 4a. **Invited focus articles** – presenting a position or hypothesis on a basic science or clinical subject of relevant related topics. These articles are not intended for the presentation of original results, and the authors of the articles are selected by the Editorial Board.
- 4b. **Invited commentaries** – critiquing a focus article by addressing the strong and weak points of the focus article. These are selected by the Editorial Board in consultation with the focus article author, and the focus article and the commentaries on it are published in sequence in the same issue of the Journal.
5. **Invited guest editorials** – may periodically be solicited by the Editorial Board.
6. **Proceedings of symposia, workshops, or conferences** – covering topics of relevance to adhesive dentistry and related topics.
7. **Letters to the Editor** – may be submitted to the editor-in-chief; these should normally be no more than 500 words in length.

SUBMISSION INSTRUCTIONS

Submission of manuscripts in order of preference:

1. Submission via online submission service (www.manuscriptmanager.com/jadd). Manuscript texts should be uploaded as PC-word files with tables and figures preferably embedded within the PC-word document. A broad range of file formats are acceptable. No paper version required but high resolution photographs or illustrations should be sent to the editorial office (see below). Online submissions are automatically uploaded into the editorial office's reviewer assignment schedule and are therefore processed immediately upon upload.
2. Submission via e-mail as a PC-word document (richter@quintessenz.de). Illustrations can be attached in any format that can be opened using Adobe Photoshop, (TIFF, GIF, JPG, PSD, EPS etc.) or as Microsoft PowerPoint Documents (ppt). No paper version required but high resolution photographs or illustrations should be sent to the editorial office.
3. One paper copy of the manuscript plus a floppy diskette or CD-ROM (mandatory) containing a PC-word file of the manuscript text, tables and legends. Figures should be included on the disk if possible in any format that can be opened using Adobe Photoshop, (TIFF, GIF, JPG, PSD, EPS etc.) or as a Microsoft PowerPoint Document (ppt)

Mailing address:

Quintessenz Verlag-GmbH, Juliane Richter
The Journal of Adhesive Dentistry,
Koenigsstr. 18, D-12099 Berlin, Germany

Illustrations that cannot be sent electronically will be scanned at the editorial office so that they can be sent to reviewers via email along with the manuscript to expedite the evaluation process. Resubmitted manuscripts should also be submitted

in the above manner. Please note that supplying electronic versions of your tables and illustrations upon resubmission will assure a faster publication time if the manuscript is accepted.

Review/editing of manuscripts. Manuscripts will be reviewed by the editor-in-chief, and at least two reviewers with expertise within the scope of the article. The publisher reserves the right to edit accepted manuscripts to fit the space available and to ensure conciseness, clarity, and stylistic consistency, subject to the author's final approval. **Adherence to guidelines.** Manuscripts that are not prepared in accordance with these guidelines will be returned to the author before review.

MANUSCRIPT PREPARATION

- The Journal will follow as much as possible the recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver Group) in regard to preparation of manuscripts and authorship (Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann Intern Med* 1997;126: 36-47).
- **Title page.** The first page should include the title of the article (descriptive but as concise as possible) and the name, degrees, job title, professional affiliation, contribution to the paper (e.g., idea, hypothesis, experimental design, performed the experiments in partial fulfillment of requirements for a degree, wrote the manuscript, proofread the manuscript, performed a certain test, consulted on and performed statistical evaluation, contributed substantially to discussion, etc.) and full address of all authors. Phone, fax, and e-mail address must also be provided for the corresponding author, who will be assumed to be the first-listed author unless otherwise noted. If the paper was presented before an organized group, the name of the organization, location, and date should be included.
- **3-5 keywords.**
- **Structured abstract.** Include a maximum 250-word structured abstract (with headings Purpose, Materials and Methods, Results, Conclusion).
- **Introduction.** Summarize the rationale and purpose of the study, giving only pertinent references. Clearly state the working hypothesis.
- **Materials and Methods.** Present materials and methods in sufficient detail to allow confirmation of the observations. Published methods should be referenced and discussed only briefly, unless modifications have been made. Indicate the statistical methods used, if applicable.
- **Results.** Present results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all the data in the tables or illustrations; emphasize only important observations.
- **Discussion.** Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that follow from them. Do not repeat in detail data or other material given in the Introduction or Results section. Relate observations to other relevant studies and point out the implications of the findings and their limitations.
- **Acknowledgments.** Acknowledge persons who have made substantive contributions to the study. Specify grant or other financial support, citing the name of the supporting organization and grant number.
- **Abbreviations.** The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.
- **Trade names.** Generic terms are to be used whenever possible, but trade names and manufacturer should be included parenthetically at first mention.
- **Clinical Relevance.** Please include a very brief (2 sentences or 3 lines) clinical relevance statement.

REFERENCES

- All references must be cited in the text, according to the alphabetical and numerical reference list.
- The reference list should appear at the end of the article, in alphabetical and numerical sequence.
- Do not include unpublished data or personal communications in the reference list. Cite such references parenthetically in the text and include a date.
- Avoid using abstracts as references.

- Provide complete information for each reference, including names of all authors. If the reference is part of a book, also include title of the chapter and names of the book's editor(s).

Journal reference style:

1. Turp JC, Kowalski CJ, Stohler CS. Treatment-seeking patterns of facial pain patients: Many possibilities, limited satisfaction. *J Orofacial Pain* 1996;12:61-68

Book reference style:

1. Hammen AG, Langenbach GEJ, Peck CC. Computer simulations of jaw biomechanics. In: McNeill C (ed). *Science and Practice of Occlusion*. Chicago: Quintessence, 1997:187-194.

ILLUSTRATIONS

- All illustrations must be numbered and cited in the text in order of appearance.
- Paper version**
 - The figure number and first author's last name should be indicated on the back of each photograph or on the mount of each slide. Also indicate the top edge lightly in pencil.
 - Do not mark author's name on duplicates!
 - Do not bend, fold, or use paper clips. Do not mount slides in glass.
 - For protection against damage or loss, authors should retain duplicate slides and illustrations.
 - All illustrations are returned after publication.
 - Original artwork must be provided with original submission.

Black & white – Submit three sets of high-quality glossy prints. Should the quality prove inadequate, negatives will be requested as well. Photographs should be unmounted and untrimmed.

Radiographs – Submit the original radiograph as well as two sets of prints.

Color – Original slides (35 mm transparencies) must be submitted, plus two sets of prints made from them. When instruments and appliances are photographed, a neutral background is best; structured fabrics are unsuitable.

Use drawings – Figures, charts, and graphs should be professionally drawn and lettered large enough to be read after reduction. Good-quality computer-generated laser prints are acceptable (no photocopies); also provide electronic file if possible. Lines within graphs should be of a single weight unless special emphasis is needed.

Legends – Figure legends should be grouped on a separate sheet and typed double-spaced.

TABLES

- Each table should be logically organized, on a separate sheet, and numbered consecutively.
- The title and footnotes should be typed on the same sheet as the table.

MANDATORY SUBMISSION FORM

The Mandatory Submission Form, signed by all authors, must accompany all submitted manuscripts before they can be reviewed for publication. Electronic submission: scan the signed form and submit as JPG or TIFF file.

PERMISSIONS & WAIVERS

- Permission of author and publisher must be obtained for the direct use of material (text, photos, drawings) under copyright that does not belong to the author.
- Waivers must be obtained for photographs showing persons. When such waivers are not supplied, faces will be masked to prevent identification. For clinical studies the approval of the ethics committee must be presented.

PAGE CHARGE

The first 8 printed pages in an article are free of charge. For excess pages, the charge is €140 per printed page. The approximate number of characters on a printed page is approximately 6,800. Please also consider the number and size of illustrations.