



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ANTIOXIDANTES E A SUA AÇÃO NA DENTINA

Trabalho submetido por
Carolina Cabeça Pintor
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2021



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ANTIOXIDANTES E A SUA AÇÃO NA DENTINA

Trabalho submetido por
Carolina Cabeça Pintor
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Carlos Manuel Lopes Monteiro

setembro de 2021

Agradecimentos

Ao Prof. Carlos Monteiro por toda a disponibilidade e ajuda que me forneceu ao longo da realização deste trabalho, sem ele não teria sido possível.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz por cinco anos de oportunidades, aprendizagem e crescimento pessoal.

Aos meus pais pelo amor, carinho e sobretudo apoio incondicional ao longo deste curso e ao longo da vida. Vocês são a razão deste da minha vida ser um sucesso.

Aos meus irmãos, por me ajudarem a ser uma pessoa melhor todos os dias, por me ajudarem a saber o equilíbrio entre a seriedade da vida e a beleza de uma boa gargalhada.

Ao meu namorado, Gil, por aturar todas as mudanças de humor, todos os dramas sem nunca reclamar ou julgar. Foste o meu porto seguro durante estes cinco anos.

Às minhas parceiras de box, Madalena e Mafalda, esta caminhada fizemos juntas, obrigada por todos os momentos, por todo o apoio, por todos os ensinamentos, vão ficar no meu coração. Este trabalho e este curso foi feito graças a vocês.

Aos meus colegas de curso, especialmente Sofia, Inês, Sebastião, vocês completam a essência do espírito académico e dão sentido à palavra companheirismo. Obrigada por nunca me deixarem desistir.

Resumo

A dentina é um substrato dentário de elevada importância biológica, sendo um tecido mineralizado dinâmico e sujeito a várias alterações, como tal é necessário preservar. Dado a biodinâmica dentinária e a evolução da medicina dentária conservadora, este tecido encara várias adversidades no que toca à adesão e ao impacto da cárie dentária.

Os antioxidantes são elementos inibidores da ação de radicais livres, tem um papel muito importante sobre as metaloproteínases e agem sobre as fibras de colagénio. Tendo em conta todas estas características é possível associar a ação benéfica dos antioxidantes na dentina.

Esta dissertação centra-se na resolução de um problema chave que é como diminuir a degradação da camada híbrida simultaneamente à existência da conservação do tecido dentinário. Através da análise das causas da evolução da carie dentária, degradação da camada híbrida e instabilidade da adesão a longo prazo, são avaliados vários estudos de diferentes autores sobre uso de antioxidantes na dentina e são observados os seus resultados.

Objetivo: Avaliar qual a ação dos antioxidantes na dentina e classificar a sua ação como benéfica ou não para este tecido dentário.

Palavras-chave: antioxidantes; dentina; adesão; metaloproteínases

Abstract

Dentin is a dental substrate of high biological relevance, being a dynamic mineralized tissue that is vulnerable to several alterations, therefore is necessary to preserve. Given the dentinary biodynamic and the evolution of the conservative odontology, this tissue faces several adversities when it comes to the impact in dental cavities. Antioxidants are inhibiting elements towards the action of reactive oxygen species; they have an important role over the metalloproteinases and act on the collagen fibers. Accounting all these characteristics it is possible to associate the beneficial action of the antioxidants in the Dentine. This dissertation is focused on the resolution of a key problem that is how to reduce the degradation of hybrid layer while keeping the conservation of the dental tissue. Due to analysis of the evolution of the dental cavity, degradation of the hybrid layer and instability of the long-term bonding, there are evaluated several other studies over the use of antioxidants in the Dentine and their results are observed

Objective: Evaluate the effect of antioxidants in the Dentine and to classify its action as benefic or not for the dental tissue

Key words: antioxidants; dentin; adhesion; metalloproteinases

Índice Geral

1. Introdução	11
2. Dentina	15
2.1 Pré Dentina:	16
2.2 Dentina Primária:	16
2.2.1 Dentina do Manto:	16
2.2.2 Dentina Circumpulpar	16
2.3 Dentina Secundária	17
2.4 Dentina Terciária	17
2.5 Dentina da Junção Amelo-dentinária	17
2.6 Dentina Radicular	18
3. Colagénio	19
4. Adesão	23
4.1 Adesão no Esmalte	24
4.2 Adesão à Dentina	25
5. Sistemas Adesivos	27
5.1 Adesivos <i>Etch-and-Rinse</i>	28
5.2 Adesivos <i>Self-Etch</i>	29
5.3 Adesivos Universais	30

6. Camada Híbrida	33
6.1 Fatores que degradam a Camada Híbrida.....	34
6.1.1 Degradação Hidrolítica	34
6.1.2 Degradação por infiltração incompleta dos monómeros de resina	34
6.1.3 Degradação Enzimática	35
7. Metaloproteínas	37
8. Antioxidantes	39
8.1 Antioxidantes na Medicina Dentária	41
8.1.1 Antioxidantes no Branqueamento Dentário.....	41
8.1.2 Antioxidantes na Endodontia	41
8.1.3 Antioxidantes na Periodontologia	42
8.1.4 Antioxidantes na Dentisteria	42
8.1.5 Antioxidantes na Implantologia	43
8.1.6 Antioxidantes e o Cancro Oral.....	43
9. Efeitos dos Antioxidantes na Dentina	45
10. Conclusão	49
10.1 Perspetivas Futuras.....	49
11. Bibliografia.....	51

Índice de Figuras

Figura 1: Esquema da estrutura dentária.....	15
Figura 2: Esquema representativo de colagénio.....	19
Figura 3: Formação de cristais de Hidroxiapatite nos <i>gaps</i> das fibrilhas de colagénio..	20
Figura 4: Ângulo de contato.....	22
Figura 5: Esquema de adesivos do tipo <i>Etch&Rinse</i>	28
Figura 6: Esquema sistema adesivo <i>Self-Etch</i>	30
Figura 7: Esquema sistema adesivo universal.....	30
Figura 8: Esquema representativo da formação da camada híbrida.....	31
Figura 9: Esquema representativo da fala de infiltração do <i>bond</i>	33

Índice de tabelas

Tabela 1: Elementos de um sistema adesivo.....	25
Tabela 2: Sistemas Adesivos.....	26
Tabela 3: Classificação de Antioxidantes.....	38

Lista de Siglas

10-MDP – 10- Metacriloiloxidecil di-hidrogenofosfato

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

Ala - Alanina

Bis-GMA – Bisfenol-A glicidil metacrilato

ERO – Espécies reativas de oxigênio

Gly – Glicina

HEMA - 2-hidroxietil metacrilato

HPN - Hesperina

Hyl -Hidrolisina

Hyp- Hidroxiprolina

Lis - Lisina

MMPs - Metaloproteínases

Pro – Prolina

ROS – *Reactive Oxygen Species*

Ser – Serina

TEGDMA – Trietilenoglicol dimetacrilato

UDMA - uretano dimetacrilato

1. Introdução

O objetivo atual da Medicina Dentária é a preservação da peça dentária na cavidade oral pelo máximo tempo possível, para tal é necessário o tratamento das mais variadas patologias que afetam tanto o dente em si, como os tecidos que o suportam (Schmidlin et al., 2005).

O dente propriamente dito é composto por três camadas básicas: o esmalte, que é a camada inerte e acelular mais mineralizada; a dentina, camada intermédia ligeiramente menos mineralizada e mais resiliente; e a polpa composta por tecido conjuntivo e é considerada o suporte vital do dente (representado na Figura 1) (Nanci, 2013).

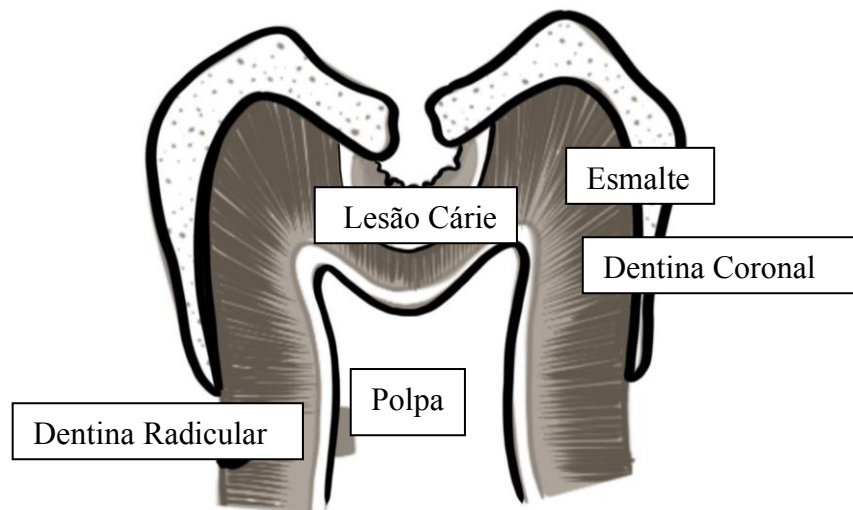


Figura 1: Esquema da estrutura dentária

A cárie dentária é uma patologia dos tecidos mineralizados do dente que se caracteriza pela desmineralização dos mesmos, seguida pela destruição da base orgânica levando então à lesão de cárie propriamente dita. As bactérias são os promotores e precursores da cárie dentária, pois o seu metabolismo produz ácidos que levam a que o pH local atinja valores críticos que promovem a dissolução dos cristais de hidroxiapatite (Mazzoni et al., 2015).

A dentina, é então, como já referido um dos tecidos de suporte do dente, permitindo que o esmalte não fracture quando sujeito a forças mastigatórias (Nanci, 2013). Esta capacidade provém da composição da sua matriz orgânica, camada que possui uma rede

de colagénio que fornece estabilidade e resiliência ao tecido dentinário (Breschi et al., 2018). Quando a cárie dentária progride e atinge a dentina causa alterações na mesma, a desmineralização provoca desaparecimento dos cristais de hidroxiapatite dentinária o que leva a exposição das fibrilhas de colagénio deixando-as à mercê da destruição (Hiraishi et al., 2013; Mazzoni et al., 2015).

No tratamento da cárie dentária o tratamento de lesões cariosas é cada vez mais um desafio na medicina dentária, a dentisteria adesiva tornou, assim, como principal meta a obtenção de restaurações com interfaces bem seladas como mínimo risco de cárie secundária ou insucesso da restauração (Perdigão et al., 2013; Samimi et al., 2018). No esmalte este propósito é conseguido com sucesso, mas na dentina a concretização desta tarefa torna-se mais atribulada, devido à sua natureza orgânica e à humidade presente (Perdigão et al., 2013).

Assim, com a evolução das técnicas de adesão tem aumentado o sucesso das restaurações diretas a compósito, mas o zelo pela duração e estabilidade é um desafio (Tjäderhane et al., 2013), dado que a causa mais comum de falha de restaurações a resina composta provém da falência do sistema adesivo, formando-se cárie secundária por degradação da interface resina-dentina (Samimi et al., 2018).

Apesar dos avanços tecnológicos na indústria dos materiais dentários, os obstáculos como a infiltração marginal e a degradação da camada híbrida, comprometem o sucesso da reabilitação (Breschi et al., 2018; Gotti et al., 2015; Samimi et al., 2018), como tal é necessário identificar os pontos de insucesso e encontrar soluções.

O metabolismo celular é um processo fisiológico, que leva a oxidação de moléculas e formação de radicais livres, estes são causadores de reações em cadeia que provocam lesões celulares. Os principais a danificar mecanismos biológicos são as espécies reativas de oxigénio (ERA ou ROS – *reactive oxygen species*), estes formam-se pela irradiação com luz UV, raios X e gama, e pela reação inflamatória por neutrófilos e macrófagos (Aksakalli, 2013).

A falta de equilíbrio entre a quantidade de radicais livres e a presença de antioxidantes provoca vários problemas ao nível fisiológico, para tal o uso destes antioxidantes torna-se imprescindível no controlo (Mufeed et al., 2014). Os antioxidantes permitem a

eliminação dos ROS (Güleç Alagoz et al., 2019; Aksakalli, 2013; Mufeed et al., 2014). Estes podem ser endógenos ou exógenos e, estão presentes na saliva, mas em quantidades que por vezes podem não ser suficientes para impedir a lesão (Mufeed et al., 2014).

Os ditos antioxidantes para além de procederem como inativadores dos ROS possuem outras capacidades benéficas no que toca à medicina dentária, sendo, alguns deles, ótimos agentes que promovem a formação de ligações cruzadas, por pontes de hidrogénio, nas fibrilhas de colagénio (*cross-linking agentes*) e agentes inibidores de Metaloproteínases (Breschi et al., 2018; Epasinghe et al., 2013).

Esta revisão narrativa irá ter como objetivo descrever a ação dos antioxidantes e a sua possível utilidade na medicina dentária conservadora, analisando a sua ação na dentina mais especificamente no colagénio dentinário. Assim, como organização desta dissertação iremos analisar a composição da dentina, estrutura e formação do colagénio dentinário, o que são antioxidantes e qual o seu efeito na dentina.

2. Dentina

A dentina é um dos componentes em maior quantidade no dente, possui uma grande variedade de funções, desde proteção da polpa até ao suporte do esmalte, estando a resistência e a durabilidade da coroa diretamente dependentes da integridade deste componente (Goldberg et al., 2011; Tjäderhane et al., 2009). É revestida coronalmente por esmalte e na zona radicular por cimento (Goldberg et al., 2011).

O processo de formação da dentina é altamente regulado e controlado, a formação do dente começa com variadas interações entre a ectoderme e a mesoderme. Assim a as células da papila dentária diferenciam-se e dão origem aos pré-odontoblastos que mais tarde irão se polarizar e formar odontoblastos que são as células ativas da dentinogénese. Durante a diferenciação dos pré odontoblastos é formada uma matriz extracelular maioritariamente composta por colagénio com uma arquitetura regular e organizada. Os odontoblastos jovens vão, então secretar colagénio e outras proteínas não colagénicas (como por exemplo elastina e a laminina). (Linde & Goldberg, 1993)

A sua composição varia nas diferentes zonas, difere se nos referimos à dentina tubular, à dentina junto à junção amelo-dentinária ou da dentina adjacente ao cimento (Goldberg et al., 2011; Tjäderhane et al., 2009). Mas quando falamos de dentina de grosso modo, referimo-nos a um elemento estrutural primordialmente composto por pequenos cristais de hidroxiapatite embebidos numa matriz de fibrilhas de colagénio (Goldberg et al., 2011).

Assim, falamos de um tecido mineralizado proveniente de uma matriz extracelular em 90% composta por colagénio e 10% proteínas não colagénicas e proteoglicanas (Bedran-Russo et al., 2007). Apesar deste tecido poder sofrer alguma remineralização é menos resistente sendo a sua destruição mais rápida e agressiva, havendo por isto a necessidade de proteção do mesmo, pois, o colagénio dentinário não possui turn-over (Goldberg et al., 2011; Tjäderhane et al., 2009).

É possível classificar a dentina em vários tipos de acordo com função, origem e função:

2.1 Pré Dentina:

Camada de matriz extracelular sem estar mineralizada que se encontra junto à polpa, com 10 a 50 µm de espessura (a espessura máxima na fase de dentinogénese e vai diminuindo com a idade), formada maioritariamente por colagénio (Nanci, 2013).

2.2 Dentina Primária:

A dentina Primária é formada rapidamente durante a formação do dente, possui uma rede colagénica compacta. Esta vai dar forma e tamanho ao dente (Tjäderhane et al., 2009). A sua formação e deposição começa na dentinogénese e continua até o dente entrar em oclusão (Nanci, 2013).

2.2.1 Dentina do Manto:

Camada mais superficial da dentina, encontra-se junto ao esmalte. É diferente do resto da dentina, possui uma matriz orgânica mais irregular. É uma dentina atubular mas bastante permeável, é considerada como a dentina que proporciona a capacidade elástica do dente, permitindo a este resistir às forças mastigatórias (Tjäderhane et al., 2009).

As fibras de Von Korff fazem parte deste tipo de dentina e são constituídas por colagénio tipo III, fibronectina e uma pequena quantidade de colagénio tipo I. A própria mineralização deste tipo de dentina dá-se então por intermédio de vesículas (Goldberg et al., 2011; Nanci, 2013; Tjäderhane et al., 2009).

2.2.2 Dentina Circumpulpar

Encontrada imediatamente abaixo da dentina do manto, apresenta-se na fase de dentinogénese como uma camada fina que aumenta a sua espessura consoante o tamanho da polpa. Como a sua matriz é totalmente secretada por odontoblastos a sua composição é rica em colagénio mais compacto (Nanci, 2013)

Vai se subdividir em dentina intertubular e peritubular:

- Intertubular: rede densa de colagénio mineralizada com cerca de 90% de colagénio tipo I (Goldberg et al., 2011)

- Peritubular: Resulta da adsorção de matriz amorfa ao longo do lúmen dos túbulos dentinários, não sendo detetado colagénio, mas sim, fosfolípidos e proteínas não colagénicas (Goldberg et al., 2011; Nanci, 2013; Tjäderhane et al., 2009).

2.3 Dentina Secundária

A dentina secundária é aquela que está adjacente à polpa, tem uma formação mais lenta, pouco difere da dentina primária apenas possui uma disposição dos túbulos mais irregular, estes apresentam uma curvatura em “s” como defesa pulpar, porque torna esta dentina menos permeável (Goldberg et al., 2011; Nanci, 2013; Tjäderhane et al., 2009).

2.4 Dentina Terciária

Sendo esta considerada uma dentina que se forma como função de defesa da polpa, é uma resposta a uma agressão exterior (atrição, abrasão, erosão, trauma, cárie e tratamentos dentários). Funciona através do aumento da espessura de tecido mineralizado de modo a formar uma barreira entre a polpa e o estímulo de agressão, a sua quantidade depende da duração e da intensidade da agressão (Nanci, 2013; Tjäderhane et al., 2009)

Pode se dividir em dois tipos (Tjäderhane et al., 2009):

- Reacional: formada por odontoblastos pré-existentes, é tubular e tem estrutura similar à dentina secundária.
- Reparadora: formada por células *Odontoblast-like* e tem uma estrutura e mineralização mais variável.

2.5 Dentina da Junção Amelo-dentinária

Zona de interface dentina-esmalte, que reforça a interligação mecânica entre os dois tecidos, possui fibrilhas colagénicas que se acredita possuir alta importância na resistência biomecânica (Tjäderhane et al., 2009).

2.6 Dentina Radicular

Esta dentina tem formação semelhante à dentina coronária, sendo a característica que mais a diferencia a disposição dos túbulos dentinários, pois estes dispõem-se de forma praticamente retilínea (Nanci, 2013; Tjäderhane et al., 2009).

3. Colagénio

O colagénio é das proteínas mais abundantes nos animais, sendo nos mamíferos 30% de todas as proteínas (Patino et al., 2002).

A matriz extracelular que dá origem à dentina é composta maioritariamente por colagénio tipo I, mas o colagénio tipo III e V também são detetados (Breschi et al., 2018; Goldberg et al., 2011; Tjäderhane et al., 2009). A síntese desta proteína é feita pelos odontoblastos na fase de odontogénese e é a sua estrutura e organização que permite a arquitetura organizada da dentina (Goldberg et al., 2011)

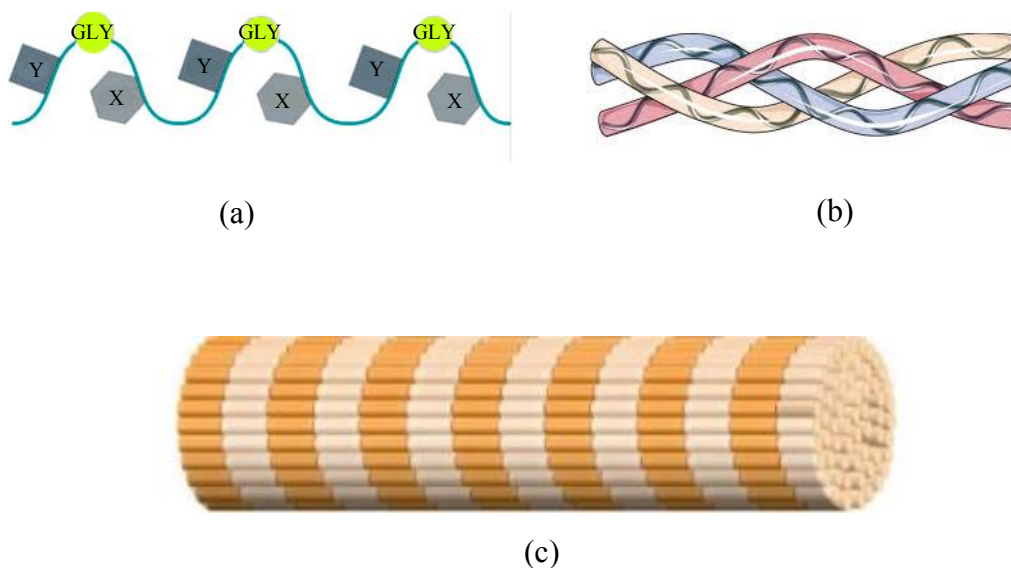


Figura 2: Esquema representativo de colagénio. (a) Sequência de aminoácidos formadores da cadeia; (b) Molécula de tropocolagénio; (c) Fibra de colagénio

O colagénio é uma molécula cuja unidade básica é o tropocolagénio, que é formada três cadeias α (duas α_1 e uma α_2) enroladas em tripla hélice (Breschi et al., 2018; Patino et al., 2002; Levine, 2011). As cadeias, que formam o tropocolagénio, são sequências repetitivas de aminoácidos, em que a Glicina (Gly) ocupa a terceira posição, constituindo um terço da composição da molécula de colagénio. Em cadeia com a glicina encontram-se aminoácidos como a Prolina (Pro), a Hidroxiprolina (Hyp), a Alanina (Ala), a Serina (Ser), a Lisina (Lis) e a Hidroxilisina (Hyl) (Levine, 2011). Por sua vez esta tripla hélice

interliga-se com outras formando fibrilhas, que, também se interligam e formam redes de colagénio (representado na figura 2) (Breschi et al., 2018; Levine, 2011).

Com formação das redes há um afastamento das fibrilhas dando origem a falhas (*gaps*) que serão preenchidos por cristais de hidroxiapatite durante a dentinogénese (representado na figura 3) (Breschi et al., 2018). Para fortalecimento das redes de fibrilhas colagénicas, formam-se ligações cruzadas que também tornam a matriz mais resistente à degradação enzimática (Bedran-Russo et al., 2007; Samimi et al., 2018) e permite que o colagénio não seja desnaturado por ação de ácidos presentes nos sistemas adesivos (Breschi et al., 2018).

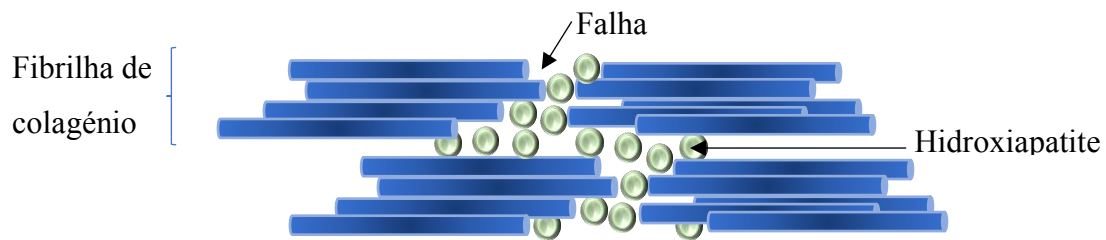


Figura 3: Formação de cristais de hidroxiapatite nos *gaps* das fibrilhas de colagénio (Baseado em He et al., 2019)

Durante a mineralização as redes de colagénio vão formar nanocompartimentos cheios de água onde vão crescer os cristais de hidroxiapatite, a água vai sendo substituída pelo tecido mineralizado (Tjäderhane et al., 2013). Assim obtêm-se um tecido mineralizado composto por colagénio, que permite a obtenção de uma estrutura organizada, por proteínas não colagénicas (como proteoglicanas, glicosaminoglicanas e proteínas de ligação), que funcionam como reguladoras de água e estabilizadoras das fibrilhas de colagénio e cristais de hidroxiapatite, que fornecem resistência (Breschi et al., 2018).

Ao contrário do colagénio presente nos restantes tecidos do corpo, o dentinário não possui *turn-over*, isto é, uma vez degradado não é possível de ser restituído, sendo este o alicerce da estrutura dentinária a sua preservação é de alta necessidade (Breschi et al., 2018). Como referido um maior número de ligações cruzadas entre as fibrilhas de colagénio melhora as propriedades mecânicas do colagénio, existindo elementos com capacidade de promover este tipo de ligações, como os antioxidantes com propriedades de *cross-link*

agents porque não os usar? (Bedran-Russo et al., 2007; Patino et al., 2002; Samimi et al., 2018).

4. Adesão

O aparecimento dos sistemas adesivos veio mudar por completo a abordagem do médico dentista, tornando a dentisteria conservativa possível. Estes permitiram que os clínicos tornassem o tratamento da lesão de cárie restrito ao tecido lesado, sem a necessidade de cavidades retentivas e demasiado grandes (Breschi et al., 2018; Perdigão, 2002).

Na medicina dentária, a adesão refere-se a um conjunto de passos em que o material de restauração se une ao tecido dentário. Nestes passos é necessário a remoção da fase mineral da dentina sem alterar o colagénio da matriz, preenchimento do espaço deixado pela desmineralização com polímeros (Porto et al., 2018).

Adesão é um conceito que requer um adesivo, que é a substância de união e uma superfície aderente, que se trata do substrato que necessita de se unir a outro material (Anusavice et al., 2013). Deste modo é possível que esta a adesão se dê de várias formas, adesão mecânica, adesão química e adesão física (Nakabayashi et al., 1982; Nakabayashi et al., 1991; Watanabe et al., 1994):

1. Adesão Mecânica: ocorre quando o adesivo penetra em poros e/ou fendas da dita superfície aderente criando uma interligação entre os materiais quando há endurecimento do adesivo. Estas irregularidades da superfície aderente podem ser de dimensões microscópicas e até submicroscópicas.
2. Adesão Química: dá-se por ligações de valência primárias, como ligações covalentes, iónicas e metálicas, e também por ligações de valência secundárias como as forças de Van der Waals. Para que este tipo de adesão ocorra é necessário que exista energia de superfície suficiente para que as ligações se estabeleçam (para maior capacidade de adesão, mais energia de superfície é necessária).
3. Adesão Física: ocorre por forças de valências mais fracas, como dipolos moleculares e nuvens de eletrões, que vão complementar a adesão realizada mecânica e fisicamente.

Apesar de existirem várias formas de adesão, quando falamos de dois sólidos é muito complicado de haver uma união perfeita, pois por mais polidas que se encontrem as superfícies a nível microscópico existem sempre porosidades e rugosidades e só os pontos de maior relevo é que se tocam, formando espaços vazios. Assim, como solução é

necessário a existência de um líquido que escoe por todas as irregularidades e as preencha de modo a criar a maior área de contato. A esta capacidade de um adesivo escoar por toda a superfície chamamos de molhabilidade, e esta depende de fatores como a inexistência de impurezas, ângulo de contato e energia de superfície (ou também denominada de tensão superficial) (Anusavice et al., 2013; Watanabe et al., 1994).

O ângulo de contato é a extensão de superfície aderente que o adesivo consegue molhar, ou seja o ângulo de contacto é um indicador de molhabilidade. À medida que o ângulo diminui a molhabilidade aumenta, sendo nula quando o ângulo é de 180° e máxima quando o ângulo é igual a zero (Anusavice et al., 2013; Watanabe et al., 1994).

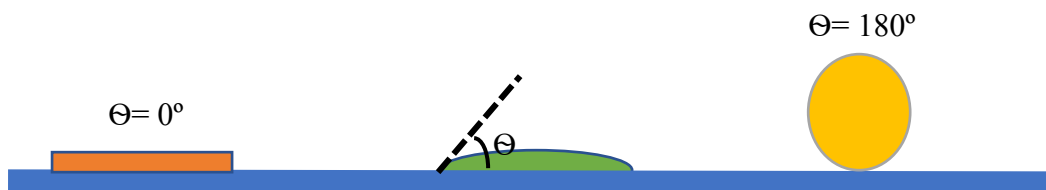


Figura 4: Ângulo de contacto (baseado em Anusavice et al., 2013 e Watanabe et al., 1994)

Assim é possível ter adesão ao esmalte e adesão à dentina, que resultam de forma diferente (Perdigão, 2002):

4.1 Adesão no Esmalte

O esmalte é um tecido com baixa quantidade de água e o seu conteúdo orgânico é bastante reduzido permitindo a que as forças de adesão sejam estáveis e mais fortes (Bedran-Russo et al., 2017).

O ataque ácido transforma o esmalte numa superfície irregular com microporosidades onde a resina vai penetrar por capilaridade existindo uma adesão mecânica quando esta é polimerizada, formando-se prolongamentos de resina (Perdigão, 2002)

4.2 Adesão à Dentina

A adesão à dentina é mais complicada do que quando falamos de adesão ao esmalte, pois é um tecido dinâmico, permeável, com alto conteúdo orgânico e variável ao longo do dente (Bedran-Russo et al., 2017; Tjäderhane, 2015).

A ação dos instrumentos de remoção de tecido cariado e preparação do tecido dentinário formam a denominada *smearlayer*, camada composta por colagénio, detritos de cristais de hidroxiapatite e pode ainda conter vestígios de saliva e bactérias. Esta camada irá bloquear o acesso aos túbulos dentinários, originando locais com baixa força adesiva (*smearplugs*), para os retirar é necessário que esta seja dissolvida totalmente, ou parcialmente, pelo ataque ácido e a resina irá penetrar nos túbulos dentinários formando *resin tags*. Mas mesmo esta desmineralização tem que ser cuidadosa pois a estabilidade do colagénio e a hidratação da dentina são postas em causa (Van Landuyt et al., 2005; Perdigão, 2002).

Deste modo a adesão da dentina necessita que primeiro se expanda a rede colagénio, para manter os espaços interfibrilares disponíveis para os monómeros resinosos infiltrarem, e depois manter a hidratação ideal para que o excesso de água não iniba a infiltração e polimerização dos monómeros (Nakabayashi et al., 1991; Sartori et al., 2016).

5. Sistemas Adesivos

Os sistemas adesivos são compostos em forma de soluções, que graças à sua composição permitem a união de um material restaurador ao substrato dentário. Estes têm como objetivo a criação de selamento marginal adequado e aumento da durabilidade da restauração (Perdigão, 2007).

Um denominado sistema adesivo é composto por três elementos:

Tabela 1: Elementos de um sistema adesivo. (Breschi et al., 2018; Perdigão et al., 2013)

Ácido	Primer	Bond
<ul style="list-style-type: none"> •Ácido Ortofosfórico (~37%) •Desmineralização •Exposição das redes de colagénio 	<ul style="list-style-type: none"> •Monómeros hidrofílicos •Estabilizam a rede colagénica 	<ul style="list-style-type: none"> •Resina fluída •Monómeros hidrofóbicos •Criam adesão à dentina

A base do funcionamento do sistema adesivo está na utilização do ácido ortofosfórico que no esmalte cria microporosidades e na dentina permite a exposição da matriz de colagénio, permitindo a posterior incorporação dos monómeros (Ribeiro et al., 2011).

A combinação de monómeros hidrofílicos e hidrofóbicos, é feita para que os hidrofílicos permitam a incorporação nas zonas consideradas húmidas dos hidrofóbicos de modo a que estes co-polimerizem com o material restaurador e formem a camada híbrida (Perdigão et al., 2013)

Os sistemas adesivos são classificados por gerações, técnicas de aplicação, número de passos e remoção da *smear layer* (Surbhi & Gaswami, 2011).

Existem uma vasta gama de sistemas adesivos, estes podem se agrupar em três grupos:

Tabela 2: Sistemas Adesivos (Van Meerbeek et al., 2020)

Etch&Rinse	<ul style="list-style-type: none"> • 3 Passos: Ácido/Primer/Adesivo • 2 Passos: Ácido/Primer+Adesivo
Self-Etch	<ul style="list-style-type: none"> • 2 Passos: Primer Acídico/ Adesivo • 1 Passo: Primer Acídico+Adesivo
Universal	<ul style="list-style-type: none"> • 1 Passo: Primer Acídicos + Adesivo + 10MDP

Apesar de agruparmos os sistemas adesivos em três grupos (Tabela 2), existem variadas formas e protocolos para aplicação dos mesmos, em que o clínico pode adaptar ao modo como se torne mais prático e fiável o tratamento, desde diferentes níveis de acidez como diferentes percentagens de monómeros, presença ou não de 10MDP, molécula que permite também a adesão química, pois liga-se ao cálcio dos cristais de hidroxiapatite (Van Meerbeek et al., 2020).

5.1 Adesivos *Etch-and-Rinse*

Neste tipo de adesivos é possível que sejam aplicados em três e dois passos, isto é, podemos ter os elementos todos separados ou podemos ter o *primer* e *bond* combinados numa só solução (esquemático na figura 5) (Milia et al., 2012; Van Meerbeek et al., 2020).

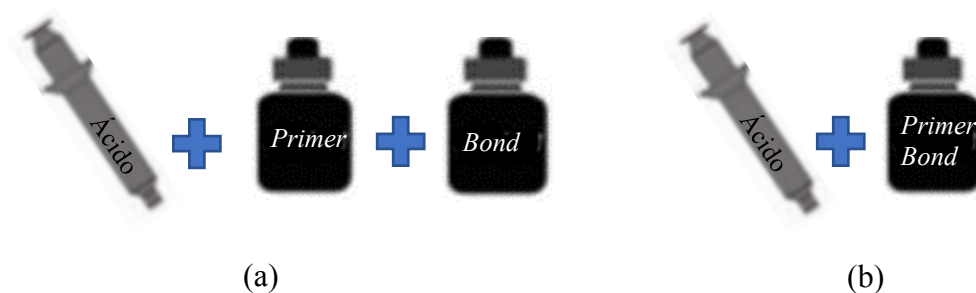


Figura 5: Esquema de adesivos do tipo *Etch&Rinse*. (a) *Etch&Rinse* três passos; (b) *Etch&Rinse* dois passos

Ao utilizar *Etch-and-rinse* o primeiro passo é então o ácido ortofosfórico (concentração pode variar 30-40%), que vai provocar a remoção da *smearlayer* e desmineraliza a superfície dentária expondo as redes de colagénio. Como segundo passo temos o *primer* que é composto por monómeros e solventes (álcool, água ou acetona), esta solução vai promover adesão através da ligação dos seus monómeros hidrofóbicos e hidrofílicos (HEMA e TEGDMA) à dentina húmida, estabilizando o colagénio e permitindo que o *bond* que é altamente hidrofóbico impregne nos espaços interfibrilares, sendo então o *bond* o último passo constituído por bis-GMA e UDMA. O *primer* e o *bond* copolimerizam formando a denominada camada híbrida (conceito explicado mais à frente) (Milia et al., 2012; Peumans et al., 2005).

Quando falamos de *etch-and-rinse* de dois passos apenas diminuimos o protocolo em um passo e *primer e bond* são então aplicados simultaneamente (Milia et al., 2012)

5.2 Adesivos *Self-Etch*

Os sistemas *etch-and-rinse* apresentam um problema que é a necessidade de lavagem e secagem abundante que podem prejudicar o grau de hidratação da dentina, dado que este não pode ser nem em demasia nem em defeito porque prejudica a adesão (Perdigão et al., 2013; Van Meerbeek et al., 2003). Como tentativa de solução surgem então os adesivos *self-etch* (também denominados de *etch-and-dry*). Dispensam a lavagem abundante seguida do ataque ácido pois o primeiro passo passa a ser o *primer*, sendo este ácido, provocando a desmineralização e em vez de eliminarem incorporam a *smear layer* (Van Meerbeek et al., 2003).

Assim, podemos encontrar vários adesivos com graus de acidez diferentes (Van Meerbeek et al., 2003):

- Forte: pH menor ou igual a 1, semelhante aos *etch-and-rinse* mas com piores resultados a longo prazo;
- Intermédios: pH igual a 1,5;
- Moderados: pH próximo de 2, não são suficientes para promover a desmineralização do esmalte;
- Ultra Moderados: pH superior a 2,5

A teoria da adesão apoia-se no facto que os monómeros ácido têm afinidade para o cálcio, como tal quanto menor a desmineralização maior disponibilidade de cálcio, então melhores resultados para os adesivos moderados do que para os fortes (Van Meerbeek et al., 2003).

A única diferença entre os sistemas de um passo ou dois disponíveis para os *self-etch* é a aplicação de todos os componentes numa só solução ou com o *bond* em separado (representado figura 6) (Milia et al., 2012).



Figura 6: Esquema sistema adesivo Self-Etch. (a) Self-Etch dois passos; (b)Self-Etch um passo

5.3 Adesivos Universais

Baseando-se nos *self-etch* de um passo surgem os adesivos universais, ou também denominados de adesivos multimodo (Suzuki et al., 2016). Estes podem ser aplicados segundo uma técnica *etch-and-rinse*, usando o ácido ortofosfórico em separado, ou segundo uma técnica *self-etch* (consultar figura 7) (Suzuki et al., 2016; Zhang et al., 2016).



Figura 7: Esquema sistema adesivo universal. (a) Aplicação do sistema o universal com aplicação o ácido em separado; (b)Sistema adesivo universal com aplicação de apenas um passo.

Para que este sistema seja usado numa técnica *etch-and-rinse* recorre-se à técnica *selective enamel etching*, em que tal como o nome indica apenas se aplica o ácido ortofosfórico no esmalte (Zhang et al., 2016).

A vantagem desta inovação nos sistemas adesivos é a adesão química que prometem acrescentar à adesão micromecânica induzida pelos restantes sistemas adesivos. Para que esta adesão química seja possível os adesivos universais possuem na sua composição um monómero funcional – o 10-MDP, molécula inicialmente patenteada em adesivos do tipo *self-etch* e só posteriormente introduzida nos universais. Esta molécula é hidrofílica e acídica, que ao reagir com o cálcio dos cristais de hidroxiapatite formando sais de cálcio insolúveis que ficam incorporados na camada híbrida tornando a ligação substrato dentário – restauração mais resistente (Suzuki et al., 2016).

Apesar da vantagem da quelação do cálcio, como os sistemas adesivos universais requerem uma incorporação grande de água no próprio sistema existe maior risco de degradação da camada híbrida (Chen et al., 2015; Milia et al., 2012).

Independente do sistema adesivo, o sucesso depende da boa manutenção e estabilidade do colagénio dentinário, para além de que é necessário a formação de uma camada híbrida (abordado no tópico seguinte) (Bedran-Russo et al., 2007; Leme-Kraus et al., 2017). Como tal, o objetivo geral do sistema adesivo é a formação de uma interface dente-resina estável e duradora, com selamento marginal adequado (Breschi et al., 2018).

A dentina possui várias zonas onde esta difere na sua estrutura, sendo a zona peri-tubular mais facilmente *etched* (mais facilmente sofre ação do ácido) formando tubos muito afunilados que dificultam a formação de *tags* resinosos (botões de retenção formados pela incorporação da resina); dentro dos túbulos dentinários existe fluido dentinário o que se torna um obstáculo aos monómeros hidrofóbicos (Marshall et al., 1997). Assim a adesão à dentina é mais complicada devido à sua estrutura complexa e ao facto de tanto o grau de hidratação, a matriz de colagénio é desmineralizada necessita de água para que se mantenha expandida para a infiltração do adesivo, como a estabilidade do colagénio serem fatores que devem ser tidos em conta (Carvalho et al., 1996; Hashimoto et al., 2011; Manso et al., 2009).

6. Camada Híbrida

A dentina é um tecido vivo e a sua estrutura envolve tanto materiais orgânicos como inorgânicos (Nakabayashi et al., 1991). Aquando do processo de adesão, dá-se a formação de uma camada, camada híbrida, que se torna a zona de interface, composta por fibras de colagénio, hidroxiapatite e monómeros de resina (Consultar figura 8) (Ribeiro et al., 2011; Liu et al., 2013). Quando há uma correta hibridação a força da adesão aumenta, formando-se assim uma camada que previne a hipersensibilidade e selamento da dentina (Nakabayashi et al., 1991).

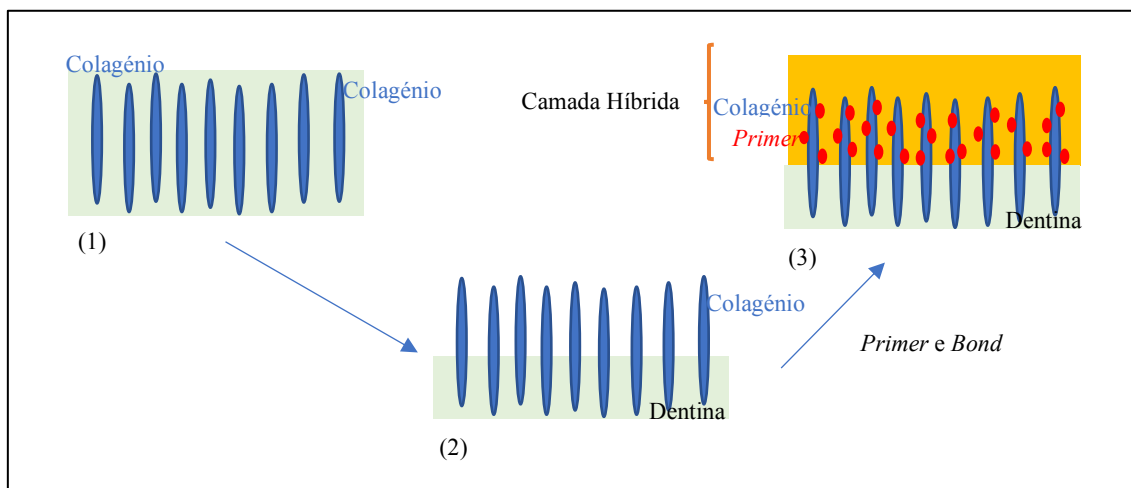


Figura 8: Esquema representativo da formação da camada híbrida. (1) Dentina não preparada; (2) Dentina desmineralizada e fibras de colagénio expostas; (3) Fibras de colagénio estabilizadas pelo primer e recobrimento com bond.

Esta forma-se pela impregnação dos monómeros nas redes colagénicas, substituindo o material mineral que foi removido do espaço interfibrilhar pelo ataque do ácido ortofosfórico (Hashimoto et al., 2011; Tjäderhane et al., 2013). É importante para que esta se forme corretamente que a desmineralização seja a suficiente para permitir a penetração do adesivo, mas não exagerada de modo a deixar zonas de colagénio sem recobrimento e colapsado (Marshall et al., 1997).

Esta camada é considerada a zona de falha das restaurações a resina composta, pois além dos fatores mais comuns de contaminação desta zona, como a saliva e sangue, a camada híbrida mesmo em condições ótimas pode sofrer danos, seja por fraca incorporação do sistema adesivo, evaporação insuficiente dos solventes, polimerização incompleta do bond, entre outras (Beck & Ilie, 2020).

6.1 Fatores que degradam a Camada Híbrida

Para além, dos fatores supramencionados a camada híbrida também está susceptível a degradação hidrolítica e enzimática (Beck & Ilie, 2020).

6.1.1 Degradação Hidrolítica

A degradação hidrolítica, é um processo químico que envolve a quebra de ligações covalentes entre os polímeros resinosos, este processo dá-se na presença de água e leva à perda de resina (Breschi et al., 2018). Isto tem como consequência, para além da diminuição da resistência por perda de material, a exposição do colagénio deixando-o à mercê da degradação enzimática (Beck & Ilie, 2020, Perdigão et al., 2013).

Ao longo dos tempos os sistemas adesivos usados na medicina dentária foram se alterando, modificando-se a sua composição para a inclusão de uma maior taxa de monómeros hidrofílicos. Esta alteração aparece com o objetivo de uma maior compatibilidade entre a adesão e dentina húmida tornando-a mais eficaz (Tay & Pashley, 2003). O problema desta nova formulação dos sistemas adesivos é que as matrizes com estes monómeros hidrofílicos são mais propícias à absorção de água, tornando-se mais instáveis e consequentemente mais suscetíveis à degradação hidrolítica (Zhang & Kern, 2009).

Ao possuímos monómeros hidrofílicos na nossa camada híbrida vamos mais facilmente aprisionar água que é um elemento de elevada importância na hidrólise do colagénio (Zhang & Kern, 2009).

6.1.2 Degradação por infiltração incompleta dos monómeros de resina

Se queremos obter uma adesão com uma zona de interface de qualidade, depende da quantidade de incorporação de monómeros nos espaços interfibrilares, isto é uma boa interface adesiva depende do total revestimento das fibras de colagénio, compondo uma camada híbrida coesa (Reis et al., 2013).

Quando obtemos uma camada híbrida com profundidade inferior à desmineralização da dentina, vamos obter uma zona de colagénio desprotegido subjacente à camada infiltrada

com monómeros (ver figura 6) (Hashimoto et al., 2011). Esta zona torna-se uma zona de fragilidade e que propicia à nanoinfiltração (Liu et al., 2011).

A existência desta infiltração deficiente dos monómeros do sistema adesivo formam-se zonas propensas à infiltração de bactérias, fluidos da cavidade oral e fluido dos túbulos dentinários (Yiu et al., 2002). Esta falha na camada híbrida pode ter variadas causas, desde os monómeros presentes no sistema adesivo (HEMA difunde-se mais facilmente do que o bis-GMA), o modo de aplicação do adesivo até ao tipo de solvente que transporta o *primer* (Wang & Spencer, 2003).

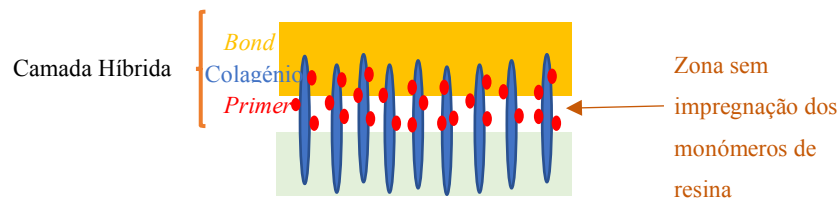


Figura 9: Esquema representativo da falta de infiltração do bond.

6.1.3 Degradação Enzimática

A degradação enzimática é então realizada por enzimas proteolíticas endógenas como as Metaloproteínases (que abordaremos em seguida) e as Catepsinas. Estas têm sido documentadas como ativas e responsáveis pelo colapso do colagénio dentinário que leva à degradação da camada híbrida (Beck & Ilie, 2020; Tjäderhane et al., 2013).

Outras causas também bastante comuns de degradação da camada híbrida são as forças oclusais e as alterações bruscas de temperatura, que levam a contração do material restaurador e posterior desadaptação, permitindo que fluídos orais penetrem nessa zona (Breschi et al., 2018).

7. Metaloproteínas

As metaloproteínas (MMPs) são proteínases endógenas, dependentes de cálcio e zinco, responsáveis pela biodegradação do colagénio (Breschi et al., 2018; Hiraishi et al., 2013; Seseogullari-Dirihan et al., 2015). Estas em condições fisiológicas são secretadas pelos odontoblastos durante a formação da dentina (De Moraes et al., 2020).

Estas proteínases têm funções fisiológicas no organismo, tendo papel na angiogénese, processos tumorais e dentinogénese, estas degradam não só colagénio como fibronectina e laminina (Zhang & Kern, 2009).

Estruturalmente estas enzimas estão divididas em domínios que variam consoante a sua espécie, mas na sua maioria estas possuem uma extremidade N-terminal, um domínio catalítico, uma região de dobradiça (*hinge*) e um C-terminal. O domínio catalítico possui dois iões de zinco e dois ou três iões de cálcio, o primeiro ião de zinco está diretamente ligado ao processo catalítico o cálcio e o segundo zinco são os estabilizadores da estrutura (De Moraes et al., 2020).

As MMPs são capazes de clivar a tripla hélice do colagénio tipo I, II e III, cortando-o em fragmentos em zonas específicas de reconhecimento. Estes fragmentos acabam por desnaturar à temperatura corporal e são degradados por outras proteínases. Para que o colagénio seja clivado é necessário que os locais de reconhecimento estejam expostos, algo que acontece por desmineralização dentinária (De Moraes et al., 2020; Tjäderhane et al., 2013).

Existem cerca de 20 espécies de enzimas proteolíticas capazes de degradar a matriz extracelular (Perdigão et al., 2013), e estas concentram-se na dentina desde o início da dentinogénese, onde são muito uteis. As MMPs mais comumente encontradas na dentina são a MMP-2 e a MMP-9 (Breschi et al., 2018, De Moraes et al., 2020), estes dois tipos possuem um domínio fibronectina-*like* que é responsável pelo reconhecimento do colagénio (De Moraes et al., 2020).

Quando estamos perante uma dentina madura, as metaloproteínases encontram-se sob a forma de pró-enzimas, só entrando em atividade quando ativadas. Esta ativação pode ser por ação de outras protéases, diminuição do pH ou agentes como espécies reativas de

oxigênio (Breschi et al., 2018; De Moraes et al., 2020; Perdigão et al., 2013). Apesar de um ambiente ácido ser fator de ativação as MMPs têm ação ótima a um pH neutro (Mazzoni et al., 2015).

Ao aplicarmos o sistema adesivo, mais propriamente na etapa de aplicação do ácido estamos a expor as fibras de colagênio, mas também a ativar metaloproteinases, ou seja, estamos a induzir alguma degradação enzimática da camada híbrida (De Munck et al., 2009; Mazzoni et al., 2015; Perdigão et al., 2013; Seseogullari-Dirihan et al., 2015).

8. Antioxidantes

Antioxidantes são moléculas que têm capacidade de neutralizar radicais livres e impedir que estes tenham efeitos nefastos, esta aptidão provém da sua estabilidade que é suficiente para poderem ceder um eletrão. Sendo os radicais livres qualquer espécie de átomo ou molécula que possa existir com um ou mais eletrões não emparelhados (Güleç Alagoz et al., 2019; Carnelio et al., 2008; Muffed et al., 2014; Shalaby & Shanab, 2013).

Os radicais livres são átomos que se encontram instáveis por excesso ou falta de eletrões, esta instabilidade leva a estes tenham elevada reatividade criando danos em células, proteínas e mesmo no ADN (Shetti et al., 2009). As espécies derivadas de oxigénio, Espécies Reativas de Oxigénio (ERO ou ROS) são as que têm maior significado biológico, estas incluem o superóxido e o hidroxilo, estes podem advir de processos fisiológicos, como o metabolismo celular, ou fontes externas como fumar, raios X, ozono, poluentes (Güleç Alagoz et al., 2019; Carnelio et al., 2008; Muffed et al., 2014; Patel et al., 2015; Shalaby & Shanab, 2013; Shetti et al., 2009).

O mecanismo de ação dos antioxidantes é através da doação dos seus eletrões ao elemento reativo, neutralizando-o e impedindo os seus efeitos nefastos (Patel et al., 2015; Shetti et al., 2009). A eficácia do antioxidante em si depende do tipo de radical livre envolvido, de como é que este se formou e de qual é o alvo (Shetti et al., 2009).

Um antioxidante é considerado efetivo quando cumpre os seguintes requisitos (Mufeed et al., 2014):

- ✓ Ter potencial de redução equivalente ao radical livre a ser eliminado, isto é ter eletrões suficientes para doar à partícula instável;
- ✓ Capacidade de inibir radicais livres de qualquer tipo;
- ✓ Ter capacidade de quelante metálico.

Os radicais livres de oxigénio podem ser formados durante o tratamento dentário, derivado do uso de materiais com produtos de branqueamento, compósitos, cimentos dentários, medicação intra-canal, entre outros (Patel et al., 2015).

Existem várias fontes de antioxidantes, desde minerais, vitaminas ou suplementos derivados de ervas (Aksakalli, 2013). podemos também os encontrar em pastas

dentífricas, colutórios e sprays com antioxidantes incorporados (Aksakalli, 2013). Também, a saliva é rica em ácido úrico, superóxido dismutase, catalase e glutatona peroxidase, tendo assim um próprio sistema antioxidante (Mufeed et al., 2014)

Para melhor compreender os antioxidantes estes foram categorizados em enzimáticos e não enzimáticos (TABELA 3) (Shalaby & Shanab, 2013).

Tabela 3: Classificação de Antioxidantes (Adaptado Shalaby & Shanab, 2013)



Apesar desta organização os antioxidantes também podem ser divididos pelo seu modo de atuação, pois existem antioxidantes com diversas funções (Güleç Alagoz et al., 2019; Carnelio et al., 2008; Mufeed et al., 2014; Patel et al., 2015; Shalaby & Shanab, 2013; Shetti et al., 2009):

- **Chain-breakers:** eliminam os radicais livres ativos de modo a suprimir cadeias de iniciação e quebram reações de propagação.
- **Prevenção:** Reduzem peróxidos de hidrogénio e hidroperóxidos transformando-os em álcool e água, suprimindo a formação de radicais livres.
- **Enzimática:** Catalisam a redução de outras moléculas.

Embora os antioxidantes possuam um papel benéfico na cavidade oral existem alguns pontos que exigem especial atenção. As doses ideais destes elementos são ainda pouco

conhecidas e podem apresentar riscos para a saúde geral do indivíduo, sendo necessário a elaboração de protocolos e aplicação de controlo de qualidade de modo a respeitar parâmetros de segurança (Aksakalli, 2013).

8.1 Antioxidantes na Medicina Dentária

Na medicina é comum o uso de antioxidantes, sendo a sua introdução no organismo feita através da alimentação. O que veio a suscitar interesse para o seu uso na medicina dentária também (Shetti et al., 2009).

8.1.1 Antioxidantes no Branqueamento Dentário

O branqueamento dentário é um procedimento com bastante procura na dentisteria estética. Neste procedimento podemos recorrer tanto ao peróxido de carbamida como ao peróxido de hidrogénio, ambos os agentes se decompõem em radicais livres instáveis que se difundem pelo dente levando à oxidação. Afetando deste modo a força de adesão entre o dente e a resina composta de forma negativa. Como a adesão fica comprometida, alguns métodos são utilizados para diminuir o impacto na adesão: esperar até 3 semanas até restaurar definitivamente, remover o esmalte superficial, usar adesivos com acetona, limpar o dente com álcool ou recorrer ao uso de antioxidantes (Güleç Alagoz et al., 2019).

Vários tipos de antioxidantes foram estudados de modo a comprovar que possuem um efeito de anulação da diminuição da força de adesão pós branqueamento. Por exemplo o extrato de pinheiro demonstrou eliminar os radicais livres e aumentar a força de adesão quando aplicado pós branqueamento (Güleç Alagoz et al., 2019).

8.1.2 Antioxidantes na Endodontia

O hipoclorito de sódio é utilizado como irrigante nos procedimentos endodônticos comuns, dada a sua ótima ação antimicrobiana e o seu poder de dissolução de matéria orgânica. Apesar do seu uso ser benéfico, este tem sido relatado como comprometedor da força adesiva, pois interfere com a polimerização dos sistemas adesivos (Prasansuttiporn et al., 2017).

De modo a contornar esta desvantagem recorre-se ao uso de antioxidantes para tratamento da superfície dentária para que estes neutralizem o poder oxidativo do hipoclorito (Patel et al., 2015; Prasansuttiorn et al., 2017).

O Licopeno demonstrou ter alto poder de neutralização dos radicais livres de oxigénio gerados pela medicação intra-canal, tal como o ácido ascórbico que demonstrou aumentar a força de adesão pós irrigação com hipoclorito (Patel et al., 2015)

8.1.3 Antioxidantes na Periodontologia

A periodontite e a gengivite, doenças que afetam o periodonto, são exemplos de que o efeito do *stress* oxidativo e a libertação de radicais livres levam à detioração celular. Assim o tratamento de ambas as patologias, incluindo a perimplantite, vem a ser testado como beneficiário dos antioxidantes. O uso de ácido ascórbico, aloé vera, entre outros, como suplemento têm efeitos de prevenção e controlo de patologias do tecido periodontal (Carnelio et al., 2008).

8.1.4 Antioxidantes na Dentisteria

Na dentisteria, como já referido o desafio é o sucesso da restauração, para tal alguns estudos vieram avaliar a hipótese do uso de antioxidantes de modo a aumentar a longevidade das restaurações (Aksakalli, 2013; Güleç Alagoz et al., 2019; Patel et al., 2015).

Estudos vieram comprovar que o uso de antioxidantes permitia uma mais fácil e efetiva remineralização dentária, como é o caso das proantocianidinas, hespiridina e a catalase, que levam a uma estabilização da rede de colagénio e aumentam a capacidade de remineralização (Güleç Alagoz et al., 2019)

A incorporação de antioxidantes no sistema adesivo é uma das hipóteses em estudo atualmente, o ácido ascórbico, por exemplo, pode ser incorporado no sistema adesivo de modo a proteger as fibras de colagénio e a permitir um aumento da força de adesão (Erhardt et al., 2011).

Antioxidantes, como o α -tocoferol, permitem que a reação de polimerização das resinas compostas prossiga sem terminar prematuramente por ligação dos monómeros a radicais livres, melhorando a adesão (Patel et al., 2015)

Outra grande vantagem comprovada na dentisteria foi o uso do propólis na proteção pulpar direta, pois este elemento com poder antioxidante demonstrou alta aptidão para promover a formação de dentina reparadora simultaneamente a um controle da inflamação pulpar (Güleç Alagoz et al., 2019).

8.1.5 Antioxidantes na Implantologia

A peri-implantite doença iniciada pela ação de bactérias (Gram negativas, anaeróbias) que se alojam na superfície do implante, necessita de tratamento e um dos recursos é a suplementação com antioxidantes que ajudam na regeneração óssea e a eliminação dos radicais livres gerados pelo metabolismo das bactérias (Aksakalli, 2013).

8.1.6 Antioxidantes e o Cancro Oral

O cancro oral é uma doença comum e de elevado risco para a saúde geral, proantocianidinas têm capacidade de reduzir a evolução do crescimento das células tumorais e inibir a proliferação de carcinomas orais. As proantocianidinas atuam como supressores de proliferação celular, impedindo que as células tumorais se multipliquem (King et al., 2007).

9. Efeitos dos Antioxidantes na Dentina

Como se tem vindo a relatar ao longo desta dissertação o sucesso para uma dentisteria adesiva com durabilidade e eficácia provém da manutenção e integridade da rede de colagénio e uma completa e correta infiltração do sistema adesivo, formando uma camada híbrida consistente sem espaços vazios (*voids*) (Mosallam et al., 2018).

Para diminuir os efeitos da degradação da camada híbrida, os antioxidantes agem na dentina de modo a inibir a ação de MMPs por mecanismos de quelação inespecífica. A cloro-hexidina, por exemplo, usada como antibacteriano e agora como inibidor enzimático. A hesperidina (HPN) que foi observada, também, como inibidor tanto de MMPs e como elemento que leva a aumento das propriedades micromecânicas da dentina (Beck & Ilie, 2020).

As proantocianidinas, flavenoides, são antioxidantes que demonstraram ser ótimos agentes de indutores da formação de ligações cruzadas e, simultaneamente, têm capacidade de inibir MMPs (Beck & Ilie, 2020; Liu et al., 2013; Perdigão et al., 2013; Mosallam et al., 2018), inibem cerca de 90% das Metaloproteínas (Mosallam et al., 2018). As proantocianidinas interagem, com proteínas ricas em prolina o que promove a formação das tão uteis ligações cruzadas (De Moraes et al., 2020).

Investigações demonstram que as proantocianidinas (provenientes do extrato uva) levam ao já referido, aumento das ligações cruzadas interfibrilares formando uma camada mais densa de colagénio. Esta camada de colagénio mais denso vai permitir que exista maior resistência à degradação hidrolítica, porque diminui a absorção de água (Castella et al., 2010).

Estudos demonstram que antioxidantes provenientes de plantas como a hesperidina e a proantocianidina, têm a capacidade de proteção do colagénio dentinário contra a biodegradação, melhorando as suas capacidades mecânicas, podendo assim ser classificados como protetores dentinários contra a progressão de cárie (Hiraishi et al., 2013).

Temos também o ácido rosmarínico, flavenoides polifenólicos, que tem, também, capacidade de *cross-link agent* e inibidor de MMPs, atuando na dentina melhorando a

resistência e força adesiva do substrato, já enfraquecido pela ação do hipoclorito de sódio durante o tratamento endodôntico (Prasansuttiorn et al, 2017).

O galato de epigallocatequina, é um polifenol como elevado efeito inibitório das collagenases que destroem a matriz orgânica da dentina. Assim, diminui a degradação enzimática pois liga-se às pontes de hidrogênio da MMP, levando a que esta se conforme numa estrutura secundária e se torne inativa (Daokar et al., 2020).

O aumento do número de ligações cruzadas no colagénio, potenciada pelos antioxidantes leva a um efeito na remineralização dentinária e consequente aumento da microdureza da dentina. Ao existir mais ligações cruzadas nas fibrilhas de colagénio permite que o flúor exerça melhor a sua ação de formação de cristais de fluorapatite, formando os cristais de maneira mais organizada preenchendo todos os espaços intra-fibrilares (Daokar et al., 2020).

O objetivo do uso de antioxidantes é melhorar a adesão através de alterações biológicas, ou seja, criar uma bioadesão envolvendo alterações físico-químicas na matriz dentinária, diminuindo assim a degradação do colagénio, melhorar a interação química resina-matriz e redução da destruição da camada híbrida (Leme-Kraus et al., 2017; Mazzoni et al., 2015).

Testes realizados com a incorporação de antioxidantes nos sistemas adesivos, demonstraram que por exemplo o ácido ascórbico é um bom candidato. O ácido ascórbico comprovou melhorar a qualidade da zona de interface resina-dentina, aumentou a durabilidade da restauração e melhorou a resistência à degradação hidrolítica (Erhardt et al., 2011).

Em resumo, temos como efeitos da ação dos antioxidantes na dentina (Castellan et al., 2010; Hiraishi et al., 2013; Leme-Kraus et al., 2017; Mazzoni et al., 2014; Prasaduttiorn et al, 2017; Daokar et al., 2020):

- Inibição da atividade de Metaloproteínases, consequente redução da degradação enzimática;
- Aumento das ligações cruzadas interfibrilares no colagénio, aumentando a resistência à degradação hidrolítica e enzimática;

Como consequências benéficas da ação dos antioxidantes na dentina (Castella et al., 2010; Hiraishi, 2013; Leme-Kraus, 2016; Mazzoni, 2015; Prasansuttiorn et al, 2017; Daokar et al., 2020):

- Redução da degradação enzimática;
- Redução da degradação hidrolítica;
- Aumentos da força adesiva;
- Maior resistência à cárie secundária;
- Maior durabilidade e eficácia do tratamento restaurador.

10. Conclusão

Durante a elaboração desta dissertação vários artigos foram analisados, como tal é possível concluir que existe, ainda, muito por explorar na vasta gama de antioxidantes. Apesar de muitas das aplicações de antioxidantes terem demonstrado resultados positivos em relação ao aumento da resistência adesiva e diminuição da degradação da camada híbrida, estes dados não possuem *follow ups* longos, devido ao facto que a grande maioria dos estudos terem sido realizados *in vitro*.

Sendo o obstáculo da medicina dentária conservadora a manutenção de uma camada híbrida intacta e duradoura, os antioxidantes demonstram ser uma das soluções a serem postas na mesa. Pois, compostos como as proantocianidinas, apresentam bons resultados tanto como agentes formadores de ligações cruzadas como inibidores de metaloproteínases.

Assim é necessário continuar com a investigação relacionada com aplicação destes componentes, especialmente na dentina, pois esta sendo um substrato, como abordado, com maior dificuldade no estabelecimento de uma adesão eficaz e duradoura.

A medicina dentária é uma especialidade em constante evolução, como as mais variadas áreas da saúde geral, sendo cada novo dado cientificamente comprovado um passo em frente no progresso. Um apelo à continuação pela busca de mais informação e de novas técnicas para que cada vez mais os médicos dentistas possam realizar os tratamentos da forma mais segura, conservadora e com garantias de eficácia a longo prazo.

Assim, apesar de uma grande necessidade de mais estudos e abordagens, foi cumprido o objetivo desta monografia. Pois, os antioxidantes agem na dentina como inibidores das Metaloproteínases e são ótimos na formação de ligações cruzadas no colagénio dentinário. Deste modo conclui-se que são benéficos para a dentina.

10.1 Perspetivas Futuras

- Realização de mais estudos *in vivo*;
- Realização de protocolos de aplicação e *guidelines* específicas.

11. Bibliografia

- Aksakalli, S. (2013). Antioxidants In Dentistry: Review Of Literature. *Dentistry*, 04(01), 1–3. <https://doi.org/10.4172/2161-1122.1000181>
- Anusavice, K., Shen, C. & Rawls, H. R. (2013). *Phillips' Science of Dental Materials*. Elsevier.
- Beck, F., & Ilie, N. (2020). Antioxidants and collagen-crosslinking: Benefit on bond strength and clinical applicability. *Materials*, 13(23), 1–19. <https://doi.org/10.3390/ma13235483>
- Bedran-Russo, A. K. B., Pereira, P. N. R., Duarte, W. R., Drummond, J. L., & Yamaychi, M. (2007). Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 80(1), 268–272. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30593>
- Bedran-Russo, A., Leme-Kraus, A. A., Vidal, C. M. P. & Teixeira, E. C. (2017). An Overview of Dental Adhesive Systems and the Dynamic Tooth–Adhesive Interface. *Dental Clinics of North America*, 61(4), 713–731. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2017.06.001>
- Breschi, L., Maravic, T., Cunha, S. R., Comba, A., Cadenaro, M., Tjäderhane, L., Pashley, D. H., Tay, F. R., & Mazzoni, A. (2018). Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dental Materials*, 34(1), 78–96. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.11.005>
- Carnelio, S., Khan, S. A., & Rodrigues, G. (2008). *Definite , probable or dubious : antioxidants trilogy in clinical dentistry*. 204(1), 29–32. <https://doi.org/10.1038/bdj.2007.1186>
- Carvalho, R. M., Yoshiyama, M., Pashley, E. L., & Pashley, D. H. (1996). In vitro study on the dimensional changes of human dentine after demineralization. *Archives of Oral Biology*, 41(4), 369–377. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(95\)00115-8](https://doi.org/10.1016/0003-9969(95)00115-8)

- Castellan, C. S., Pereira, P. N., Grande, R. H. M., & Bedran-Russo, A. K. (2010). Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. *Dental Materials*, 26(10), 968–973. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2010.06.001>
- Chen, C., Niu, L.-N., Xie, H., Zhang, Z.-Y., Zhou, L.-Q., Jiao, K. & Tay, F. R. (2015). Bonding of universal adhesives to dentine - Old wine in new bottles? *Journal of Dentistry*, 43(5), 525–536. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.03.004>
- Daokar SG, Kagne KS, Pawar KS, Wahane KD, Thorat TV, Mahakale CR, *et al.* The comparative evaluation of the effects of antioxidants pretreatment on remineralization of demineralized dentin - *In vitro* study. *J Interdiscip Dentistry* 2020;10:67-73.
- De Moraes, I. Q. S., do Nascimento, T. G., da Silva, A. T., de Lira, L. M. S. S., Parolia, A., & Porto, I. C. C. d. M. (2020). Inhibition of matrix metalloproteinases: a troubleshooting for dentin adhesion. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 45(3). <https://doi.org/10.5395/rde.2020.45.e31>
- De Munck, J., Van Den Steen, P. E., Mine, A., Van Landuyt, K. L., Poitevin, A., Opdenakker, G., & Van Meerbeek, B. (2009). Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *Journal of Dental Research*, 88(12), 1101–1106. <https://doi.org/10.1177/0022034509346952>
- Epasinghe, D. J., Yiu, C. K. Y., Burrow, M. F., Hiraishi, N., & Tay, F. R. (2013). The inhibitory effect of proanthocyanidin on soluble and collagen-bound proteases. *Journal of Dentistry*, 41(9), 832–839. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.06.002>
- Erhardt, M. C. G., Osorio, R., Viseras, C., & Toledano, M. (2011). Adjunctive use of an anti-oxidant agent to improve resistance of hybrid layers to degradation. *Journal of Dentistry*, 39(1), 80–87. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2010.10.013>
- Goldberg, M., Kulkarni, A. B., Young, M., & Boskey, A. (2011). Dentin: Structure, Composition and Mineralization. *JLTA Journal*, 14(0), Toc1. https://doi.org/10.20622/jltajournal.14.0_toc1

- Gotti, V. B., Feitosa, V. P., Sauro, S., Correr-Sobrinho, L., Leale, F. B., Stansbury, J. W., & Correr, A. B. (2015). Effect of antioxidants on the dentin interface bond stability of adhesives exposed to hydrolytic degradation. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 17(1), 35–44. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a33515>
- Gulec Alagoz, L., Karadaglioglu, O. I., & Ulusoy, N. (2019). Antioxidants used in Restorative Dentistry. *Cyprus Journal of Medical Sciences*, 4(2), 141–145. <https://doi.org/10.5152/cjms.2019.902>
- Hashimoto, M., Nagano, F., Endo, K., & Ohno, H. (2011). A review: Biodegradation of resin-dentin bonds. *Japanese Dental Science Review*, 47(1), 5–12. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2010.02.001>
- He, L., Hao, Y., Zhen, L., Liu, H., Shao, M., Xu, X., Liang, K., Gao, Y., Yuan, H., Li, J., Li, J., Cheng, L., & van Loveren, C. (2019). Biomineralization of dentin. *Journal of Structural Biology*, 207(2), 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2019.05.010>
- Hiraishi, N., Sono, R., Sofiqul, I., Yiu, C., Nakamura, H., Otsuki, M., Takatsuka, T., & Tagami, J. (2013). In vitro evaluation of plant-derived agents to preserve dentin collagen. *Dental Materials*, 29(10), 1048–1054. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.07.015>
- King M, Chatelain K, Farris D, Jensen D, Pickup J, et al. (2007) Oral squamous cell carcinoma proliferative phenotype is modulated by proanthocyanidins: a potential prevention and treatment alternative for oral cancer. *BMC Complement Altern Med* 7: 22.
- Leme-Kraus, A. A., Aydin, B., Vidal, C. M. P., Phansalkar, R. M., Nam, J. W., McAlpine, J., Pauli, G. F., Chen, S., & Bedran-Russo, A. K. (2017). Biostability of the Proanthocyanidins-Dentin Complex and Adhesion Studies. *Journal of Dental Research*, 96(4), 406–412. <https://doi.org/10.1177/0022034516680586>
- Levine, M. (2011). *Topics in Dental Biochemistry*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-88116-2> (Cap. 7.1.1)

- Linde, A., & Goldberg, M. (1993). Dentinogenesis. 4(5), 679–728.
- Liu, Y., Chen, M., Yao, X., Xu, C., Zhang, Y., & Wang, Y. (2013). Enhancement in dentin collagen's biological stability after proanthocyanidins treatment in clinically relevant time periods. *Dental Materials*, 29(4), 485–492. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.01.013>
- Manso, A. P., Bedran-Russo, A. K., Suh, B., Pashley, D. H., & Carvalho, R. M. (2009). Mechanical stability of adhesives under water storage. *Dental Materials*, 25(6), 744–749. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2008.12.006>
- Marshall, G. W., Marshall, S. J., Kinney, J. H., & Balooch, M. (1997). The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *Journal of Dentistry*, 25(6), 441–458. [https://doi.org/10.1016/s0300-5712\(96\)00065-6](https://doi.org/10.1016/s0300-5712(96)00065-6)
- Mazzoni, A., Pashley, D. H., Nishitani, Y., Breschi, L., Mannello, F., Tjaderhane, L., ... Tay, F. R. (2006). Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials*, 27(25), 4470–4476. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.040
- Mazzoni, A., Tjäderhane, L., Checchi, V., Di Lenarda, R., Salo, T., Tay, F. R., Pashley, D. H., & Breschi, L. (2015). Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *Journal of Dental Research*, 94(2), 241–251. <https://doi.org/10.1177/0022034514562833>
- Milia, E., Cumbo, E., Jose A. Cardoso, R. & Gallina, G. (2012). Current Dental Adhesives Systems. A Narrative Review. *Current Pharmaceutical Design*, 18(34), 5542–5552. <https://doi.org/10.2174/138161212803307491>
- Mosallam, R., Younis, N., Farouk, H., & Mosallam, O. (2018). Effect of green tea and two mulberry leaf extracts on micro-tensile bond strength to dentin. *Future Dental Journal*, 4(2), 150–155. <https://doi.org/10.1016/j.fdj.2018.09.003>
- Mufeed, A., Reshma, V. J., Bharadwaj, P., & Kaushik, P. C. (2014). Role of Antioxidants in Dentistry. *Journal of Dental Panacea*, 1(2), 1. <https://doi.org/10.15636/jdp/2014/v1i2/58405>

- Nakabayashi, N., Kojima, K. & Masuhara, E. (1982). The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *Journal of Biomedical Materials Research*, 16(3), 265–273. <https://doi.org/10.1002/jbm.820160307>
- Nakabayashi, N., Nakamura, M. & Yasuda, N. (1991). Hybrid Layer as a Dentin-Bonding Mechanism. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 3(4), 133–138. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8240.1991.tb00985.x>
- Nanci, A. (2013). *Ten Cate's Oral Histology: Development, structure and function*. St. Louis, Missouri: Elsevier Mosby (Cap.1)
- Patel, S., Hans, M. K., Chander, S., & Ahluwalia, A. S. (2015). Antioxidants in endodontics: A strategic review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(5), ZE12–ZE15. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/12903.5944>
- Patino, M. G., Neiders, M. E., Andreana, S., Noble, B., & Cohen, R. E. (2002). Collagen: An Overview. *Implant Dentistry*, 11(3), 280–285. <https://doi.org/10.1097/00008505-200207000-00014>
- Perdigão, J. (2002). Dentin bonding as a function of dentin structure. *Dental Clinics of North America*, 46(2), 277–301. [https://doi.org/10.1016/S0011-8532\(01\)00008-8](https://doi.org/10.1016/S0011-8532(01)00008-8)
- Perdigão, J. (2007). New Developments in Dental Adhesion. *Dental Clinics of North America*, 51(2), 333–357. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2007.01.001>
- Perdigão, J., Reis, A., & Loguercio, A. D. (2013). Dentin adhesion and MMPs: A comprehensive review. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 25(4), 219–241. <https://doi.org/10.1111/jerd.12016>
- Peumans, M., Kanumilli, P., De Munck, J., Van Landuyt, K., Lambrechts, P. & Van Meerbeek, B. (2005). Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. *Dental Materials*, 21(9), 864–881. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2005.02.003>

- Porto, I. C. C. M., Nascimento, T. G., Oliveira, J. M. S., Freitas, P. H., Haimeur, A., & França, R. (2018). Use of polyphenols as a strategy to prevent bond degradation in the dentin–resin interface. *European Journal of Oral Sciences*, 126(2), 146–158. <https://doi.org/10.1111/eos.12403>
- Prasansuttiporn, T., Thanatvarakorn, O., Tagami, J., Foxton, R. M., & Nakajima, M. (2017). Bonding Durability of a Self-etch Adhesive to Normal Versus Smear-layer Deproteinized Dentin: Effect of a Reducing Agent and Plant-extract Antioxidant. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 19(3), 253–258. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a38409>
- Reis, A., Carrilho, M., Breschi, L., & Loguercio, A. D. (2013). Overview of Clinical Alternatives to Minimize the Degradation of the Resin-dentin Bonds. *Operative Dentistry*, 38(4), 1–25. doi:10.2341/12-258-LIT
- Ribeiro, A. I. A .M. ,Dantas, D. C. R. E. , Guênes, G. M. T , de Araújo, R. K. P. , Cyrillo, C. C. , & Braz, R. ,. (2011). Ação dos agentes desproteinizantes e antioxidantes sobre a resistência de união à microtração de sistemas adesivos convencionais. *RGO.Revista Gaúcha de Odontologia (Online)*, 59(2), 221–227.
- Samimi, P., Nazem, R., Shirban, F., & Khoroushi, M. (2018). Interfacial fracture toughness of universal adhesive systems treated with an antioxidant. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 10(6), e528–e536. <https://doi.org/10.4317/jced.54188>
- Sartori, N., Peruchi, L. D., Phark, J. H. & Duarte, S. (2016). The influence of intrinsic water permeation on different dentin bonded interfaces formation. *Journal of Dentistry*, 48, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.03.005>
- Schmidlin, P. R., Zimmermann, J., & Bindl, A. (2005). Effect of ozone on enamel and dentin bond strength. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 7(1), 29–32.
- Seseogullari-Dirihan, R., Mutluay, M. M., Vallittu, P., Pashley, D. H., & Tezvergil-Mutluay, A. (2015). Effect of pretreatment with collagen crosslinkers on dentin protease activity. *Dental Materials*, 31(8), 941–947. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.05.002>

- Shalaby, E. A., & Shanab S. M. M. (2013). Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(10), 528–539. doi:10.5897/ajpp2013.3474
- Shetti, A., Keluskar, V., & Aggarwal, A. (2009). Antioxidants: Enhancing oral and general health. *Journal of Indian Academy of Oral Medicine and Radiology*, 21(1), 1. <https://doi.org/10.4103/0972-1363.57770>
- Surbhi Kakar, Mridula Goswami, A. K. (2011). Dentin Bonding Agents I : Complete Classification - A Review. *World Journal of Dentistry*, 2(December), 367–370.
- Suzuki, T., Takamizawa, T., Barkmeier, W., Tsujimoto, A., Endo, H., Erickson, R. & Miyazaki, M. (2016). Influence of Etching Mode on Enamel Bond Durability of Universal Adhesive Systems. *Operative Dentistry*, 41(5), 520–530. <https://doi.org/10.2341/15-347-L>
- Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2003). Have Dentin Adhesives Become Too Hydrophilic? *Journal of Canadian Dental Association*, 69(11), 726–731. Disponivel em <https://cdaadc.ca/jcda/vol-69/issue-11/726.pdf>
- Tjäderhane, L., Carrilho, M. R., Breschi, L., Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2009). Dentin basic structure and composition-an overview. *Endodontic Topics*, 20(1), 3–29. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2012.00269.x>
- Tjäderhane, L., Nascimento, F. D., Breschi, L., Mazzoni, A., Tersariol, I. L. S., Geraldeli, S., Tezvergil-Mutluay, A., Carrilho, M. R., Carvalho, R. M., Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2013). Optimizing dentin bond durability: Control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dental Materials*, 29(1), 116–135. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2012.08.004>
- Tjäderhane, L. (2015). Dentin Bonding: Can We Make it Last? *Operative Dentistry*, 40(1), 4–18. <https://doi.org/10.2341/14-095-BL>
- Van Landuyt, K., De Munck, J., Coutinho, E., Peumans, M., Lambrechts, P. & Van Meerbeek, B. (2005). Bonding to Dentin: Smear Layer and the Process of Hybridization. In G. Eliades, D. Watts, & T. Eliades (Eds.), *Dental Hard Tissues and*

- Bonding: Interfacial Phenomena and Related Properties (pp. 89–122). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/3-540-28559-8_5
- Van Meerbeek, B., De Munck, J., Yoshida, Y., Inoue, S., Vargas, M., Vijay, P. & Vanherle, G. (2003). Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Buonocore Memorial Lecture-University of Washington*, 28(3), 215–235.
- Van Meerbeek, B., Yoshihara, K., van Landuyt, K., Yoshida, Y., & Peumans, M. (2020). From buonocore's pioneering acid-etch technique to self-adhering restoratives. A status perspective of rapidly advancing dental adhesive technology. *Journal of Adhesive Dentistry*, 22(1), 7–34. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a43994>
- Wang, Y., & Spencer, P. (2003). Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *Journal of Dental Research*, 82(2), 141–145.
- Yiu, C.K.Y., Garcia-Godoy, F., Tay, F. R., Pashley, D. H., Imazato, S., King, N. M., & Lai, S.C. N. (2002). A Nanoleakage Perspective on Bonding to Oxidized Dentin. *Journal of Dental Research*, 81(9), 628–632. doi:10.1177/154405910208100910
- Watanabe, I., Nakabayashi, N. & Pashley, D. H. (1994). Bonding to Ground Dentin by a Phenyl-P Self-etching Primer. *Journal of Dental Research*, 73(6), 1212–1220. <https://doi.org/10.1177/00220345940730061301>
- Zhang, Z. yi, Tian, F. cong, Niu, L. na, Ochala, K., Chen, C., Fu, B. ping & Tay, F. R. (2016). Defying ageing: An expectation for dentine bonding with universal adhesives? *Journal of Dentistry*, 45, 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.11.00>
- Zhang, S., & Kern, M. (2009). The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *International Journal of Oral Science*, 1(4), 163–76. doi:10.4248/IJOS.09044