

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

RAFAEL MEDEIROS BUENO

**NOVAS ESTRATÉGIAS PARA DIMINUIR A
DEGRADAÇÃO DA CAMADA HÍBRIDA**

BAURU
2015

RAFAEL MEDEIROS BUENO

**NOVAS ESTRATÉGIAS PARA DIMINUIR A
DEGRADAÇÃO DA CAMADA HÍBRIDA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Odontologia, sob a orientação da Profª Drª Karin Cristina da Silva Modena.

BAURU
2015

Bueno, Rafael Medeiros

B9286n

Novas estratégias para diminuir a degradação da camada híbrida / Rafael Medeiros Bueno. -- 2015.

39f.

Orientadora: Profa. Dra. Karin Cristina da Silva Modena

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade do Sagrado Coração – Bauru – SP.

1. Camada híbrida. 2. Hibridização dentinária. 3. Hipermeabilização dentinária. 4. Adesivos dentinários. I. Moderna, Karin Cristina da Silva. II. Título.

RAFAEL MEDEIROS BUENO

**NOVAS ESTRATÉGIAS PARA DIMINUIR A
DEGRADAÇÃO DA CAMADA HÍBRIDA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Saúde Aplicadas como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Odontologia, sob orientação da Prof^a Dr^a Karin Cristina da Silva Modena.

Banca examinadora:

Prof^a Dr^a Karin Cristina da Silva Modena
Universidade do Sagrado Coração

Prof^a Dr^a Marcela Pagani Calabria
Universidade do Sagrado Coração

Prof^a Dr^a Polliana Mendes Candia Scaffa
Faculdade de Odontologia de Bauru/Universidade de São Paulo

Bauru, 20 de novembro de 2015

Dedico este trabalho aos meus pais
Elisabete Pedro Bueno e Sergio Medeiros
Bueno

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, que concerteza meu guiou durante esses 21 anos e vai continuar a me guiar e dar força daqui para frente.

Muito Obrigado.

Aos meus familiares que sempre de algum jeito me deram forças como um pensamento positivo, sempre torcendo para que eu realizasse meus sonhos e me desse bem na vida.

Aos meus pais Elisabete Pedro Bueno e Sergio Medeiros Bueno que se esforçaram muito para que eu me formace.

Aos meus amigos Felipe de Andrade Silva, Giovani Palhaci, Leonardo Faria que estiveram sempre comigo e me ajudaram a formar o caráter que tenho hoje.

Ao meu irmao que sempre esteve comigo e me ajuda em muitas coisas.

Á minha orientadora Profa. Dra. Karin Cristina da Silva Modena que me ajudou e sempre teve compromisso comigo.

Só é digno da liberdade, como da vida,
aquele que se empenha em conquistá-la.
(Johann Goethe).

RESUMO

Hoje em dia cada vez mais estão sendo criados materiais novos e mais avançados de resina composta, mas alguns problemas ainda não foram resolvidos como a degradação das fibrilas de colágeno que interfere na camada híbrida assim afetando a duração das restaurações de resina composta.

Para solucionar este problema estão adicionando substâncias na resina para impedir essa degradação, como Egcg e clorexidina, com isto melhorando a longevidade das restaurações, mas sem interferir na qualidade do material. O objetivo deste estudo é realizar um levantamento bibliográfico detalhado sobre as estratégias que vem sendo desenvolvidas nos últimos anos para diminuir ou prevenir a degradação da camada híbrida ao longo do tempo.

Palavras-chave: Camada Híbrida, Hibridização Dentinária, Hipermeabilização Dentinária, Adesivos Dentinários.

ABSTRACT

Nowadays more and more are being created new and more advanced material composite, but some problems remain unsolved as the degradation of collagen fibrils that interferes with the hybrid layer thus affecting the duration of composite restorations.

To solve this problem are adding substances to the resin to prevent such degradation, such as EGCG and chlorhexidine, thereby improving the longevity of restorations, but without interfering the quality of the material. The aim of this study is to conduct a detailed literature about the strategies that have been developed in recent years to reduce or prevent the degradation of the hybrid layer over time.

Key-words: Hybrid layer, dentin hybridization, Hipermeabilização dentin, dentin adhesives.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVO.....	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
4.1	MMPS E CISTEÍNA CATEPCINA	19
3.1.1	CLOREXIDINA.....	19
3.1.2	INIBIDORES SINTÉTICOS.....	18
3.1.3	INIBIDORES NATURAIS.....	20
5	DISCUSSÃO.....	20
5	CONCLUSÃO.....	21
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21

1 INTRODUÇÃO

Antes do surgimento do condicionamento ácido de esmalte e desenvolvimento dos sistemas adesivos dentinários, a restauração da cavidade só podia ser realizada às custas de retenções macromecânicas. Isto limitava a preservação de tecido dental sadio, pois as cavidades precisavam ser adequadas em extensão e profundidade para permitir a retenção do material restaurador.

O desenvolvimento dos sistemas adesivos modificou totalmente a prática da Odontologia, o que não apenas alterou os conceitos de preparo cavitário, como também possibilitou maior preservação de estrutura dental remanescente sadia. O primeiro grande impulso para a era adesiva foi dado a partir do surgimento do condicionamento ácido em esmalte, proposto por Buonocore, em 1955. Essa técnica contribuiu para melhorar o selamento marginal de restaurações de resina composta com margens localizadas em esmalte. O sucesso da técnica adesiva em dentina demorou mais tempo para se consolidar, devido as diferenças morfofisiológicas da dentina em relação ao esmalte (REIS, 2007).

Pode-se definir adesão como sendo o processo por meio do qual unimos materiais restauradores aos substratos dentais. Essa união é conseguida pela aplicação de um agente intermediário denominado adesivo dental. O mecanismo de adesão ao esmalte e à dentina é baseado num processo de troca, em que os minerais removidos dos tecidos duros dentais são substituídos por monômeros resinosos que, após a polimerização, tornam-se micromecanicamente unidos nas microporosidades criadas (VAN MEERBEEK et al., 2003). Esse processo, chamado de hibridização, envolve infiltração e polimerização *in situ* das resinas nas microporosidades criadas na superfície do tecido duro.

Adesivos dentais são combinações de monômeros resinosos de diferentes pesos moleculares e viscosidades. A diluição dos monômeros de modo a atingir a fluidez necessária para aplicação clínica é conseguida pela adição de solventes orgânicos, como a acetona e o etanol, além da água que

está presente em várias formulações. Os adesivos são constituídos de monômeros hidrofílicos e hidrofóbicos. Os monômeros hidrofílicos permitem que o adesivo seja compatível com a umidade natural do substrato dentinário, porém conferem ao material maior sorção de água, o que pode ser prejudicial para sua estabilidade ao longo do tempo. Os monômeros hidrofóbicos, normalmente de maior peso molecular e mais viscosos, são incorporados para conferir maior resistência mecânica e estabilidade ao produto.

Idealmente estes adesivos deveriam ser formulados exclusivamente com monômeros hidrofóbicos e de alto peso molecular, sem aditivos como solventes e água. Entretanto, devido à necessidade de que o adesivo penetre pelas porosidades criadas na estrutura mineralizada do dente durante a hibridização, diluentes resinosos hidrofílicos e solventes são adicionados à composição. É inegável que as diferentes características morfológicas e funcionais entre o esmalte e a dentina desempenham um papel fundamental na eficiência clínica dos adesivos. Na grande maioria dos casos clínicos, a dentina é o substrato que ocupa a maior área exposta a ser restaurada. Dessa maneira, admitindo que a dentina é um substrato naturalmente úmido e que requer uma técnica úmida de adesão, os adesivos têm adotado formulações cada vez mais hidrofílicas, o que compromete significativamente a durabilidade da mesma.

O esmalte é o único tecido mineralizado de origem epitelial e o que contém mais conteúdo mineral do corpo humano. Em peso, é constituído de 97% de carbonato-hidroxiapatita, em mineral com estrutura cristalina, 2% de água, que se encontra frouxamente ligada à porção inorgânica, firmemente unida ao cristal ou ainda, circulando livre nos poros e 1% de substância orgânica, essencialmente de natureza proteica (amelogeninas e enamelinas), além de carboidratos e lipídios (KATCHBURIAN, ARANA, 1999).

A composição da dentina é muito mais rica em materiais orgânicos que a do esmalte. É composta por 65% em peso de matéria inorgânica, praticamente toda ela na forma de cristais de hidroxiapatita (TROWBRIDGE, KIM, 1994). A matéria orgânica da dentina é basicamente composta de 20% de colágeno, 2%

de proteoglicanas, glicosaminoglicanas, glicoproteínas e lipídios e 13% de água (MJOR, 1983).

Uma particularidade da dentina humana é a presença de túbulos, que ocupam 20% a 30% do substrato em volume. Os túbulos dentinários são os canais responsáveis pela difusão de fluidos através da dentina (TROWBRIDGE, KIM, 1994) e estão diretamente relacionados à função protetora da dentina (NICHOLSON, 2001). Cada túbulo é circundado por um “colar” hipermineralizado, pobre em colágeno, chamado de dentina intratubular ou peritubular, enquanto que a dentina menos mineralizada, rica em fibrilas colágenas, localizada entre os túbulos, denomina-se dentina intertubular.

A dentina intertubular, quando descalcificada, mantém sua matriz e aproximadamente metade do seu volume é de matriz orgânica, especialmente fibrilas colágenas, irregularmente dispostas em torno dos túbulos dentinários.

Os túbulos dentinários têm de 0,5 a 1,5 μm de diâmetro e são formados num ângulo discreto com a JAD e a câmara pulpar. Há alta densidade de túbulos ao longo da dentina interna ou profunda (43000 túbulos/ mm^2) em comparação com a dentina mediana (35000 túbulos / mm^2) ou dentina externa superficial (15000 túbulos/ mm^2). Portanto, a área, o volume, a densidade, e o diâmetro dos túbulos dentinários aumentam bastante em direção a polpa.

Isto implica dizer que quanto maior a profundidade de uma preparo, maior será a sua permeabilidade e, conseqüentemente, a umidade superficial, ocasionando uma menor resistência de união e maior degradação hidrolítica. O efeito da água na degradação dos sistemas adesivos e, conseqüentemente da camada híbrida, é marcante, pois, a capacidade da água de permear o sistema adesivo está diretamente relacionada com sua característica hidrofílica.

Além da degradação hidrolítica, estão presentes as metaloproteinases (MMPs) que medeiam a degradação de praticamente todas as moléculas da matriz extracelular, incluindo as fibrilas de colágeno e este é o maior problema na degradação da camada híbrida. (BIRKEDAL-HANSEN, 1993; VISSE et al., 2003). As cisteino-catepsinas, um outro grupo de enzimas, é encontrada

principalmente nos osteoclastos e tem uma ação de degradação de colágeno I, II e IV, e também interfere na degradação da camada híbrida.

Sendo assim, novas intervenções têm sido estudadas com o objetivo de inibir a ação dessas enzimas capazes de degradar fibrilas de colágeno e assim, aumentar a durabilidade da camada híbrida e conseqüentemente, do tratamento restaurador adesivo.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

- Realizar levantamento bibliográfico detalhado sobre o tema degradação da camada híbrida.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Relatar as novas estratégias que vem sendo desenvolvidas nos últimos anos para diminuir ou prevenir a degradação da camada híbrida ao longo do tempo.

3 METODOLOGIA

A metodologia deste trabalho envolve uma revisão de literatura abordando o tema adesão, durabilidade e degradação da camada híbrida e as mais recentes descobertas na tentativa de preservar a interface de união. As bases de dados consultadas foram Pubmed, Bireme e Scielo utilizando as palavras-chaves: Camada Híbrida, Hibridização Dentinária, Durabilidade, Degradação.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Degradação da matriz de dentina: MMPs e cisteíno-catepsinas

Além da degradação hidrolítica do sistema adesivo, ocorre a degradação da matriz da dentina por enzimas que se tornaram conhecidas há pouco mais de 15 anos (Tjaderhane et al., 1998, Sulkala et al, 2001).

As metaloproteinases (MMPs) são endopeptidases que atuam clivando componentes da matriz extracelular tanto em processos patológicos quanto fisiológicos. Até o momento, 24 diferentes MMPs foram clonadas, das quais 23 foram encontradas em humanos (VISSE et al., 2003). MMPs contribuem para a remodelação tecidual tanto normal como patológica. As funções fisiológicas das MMPs incluem migração celular, remodelação tecidual, crescimento, cicatrização, angiogênese, formação do esmalte, apresentação e processamento de antígeno (HANNAS et al., 2007). As MMPs estão associadas com a remodelação da matriz orgânica da dentina (SULKALA et al., 2002).

As MMPs são divididas em 6 grupos: collagenases, gelatinases ou tipo IV collagenase, estromelisinases, matrilisinases, metaloproteinases tipo de membrana e outras (HANNAS et al., 2007). Dentre as gelatinases estão a MMP-2 e a MMP-9 e a ativação dessas duas metaloproteinases possui um papel crucial na quebra do colágeno da dentina em lesões de cárie (SULKALA et al., 2001).

Na estrutura dental, a participação das MMPs na degradação da matriz orgânica dentinária passou a ser mais fortemente considerada quando, em 2004, Pashley *et al.* avaliaram a degradação da dentina sadia desmineralizada após estocagem em meio aquoso contendo inibidor de crescimento bacteriano ou contendo inibidor de proteases. Os resultados deste estudo mostraram que a dentina desmineralizada estocada em meio aquoso com inibidor de crescimento bacteriano sofreu intensa degradação das fibrilas de colágeno observada em microscopia eletrônica de transmissão, o que não ocorreu quando o inibidor de proteases foi utilizado para a incubação das amostras. A partir desses resultados, a hipótese de que a desestruturação do colágeno exposto quando a dentina é desmineralizada e parcialmente infiltrada pelo sistema adesivo poderia ocorrer em função de um mecanismo proteolítico

endógeno, como pela ação de MMPs, se impôs como uma alternativa para explicar a prematura degradação das restaurações adesivas. Os resultados desse trabalho chamaram a atenção para a importância do estudo de tais enzimas na degradação da matriz orgânica dentinária.

Outros estudos prévios ao de Pashley et al. (2004) também já haviam sugerido que as MMPs estariam diretamente envolvidas na progressão da cárie (Tjäderhane et al., 1998; Sulkala et al., 2001). O primeiro estudo a indicar que a atividade colagenolítica observada em dentina cariada poderia ser de origem endógena foi publicado em 1983 por Dayan *et al.* Porém, por ocasião da publicação desse estudo, as MMPs, não haviam sido descritas como classe de enzimas, e o estudo de Dayan *et al.* (1983) se ateve a concluir que, em comparação com a dentina sadia, aquela acometida por cárie parecia apresentar um aporte de “colagenases” significativamente mais abundante. A hipótese de participação das MMPs na progressão da cárie tornou-se patente após as primeiras descrições da presença desta família de enzimas na dentina (Tjäderhane et al., 1998; Sulkala et al., 2001) e de evidências que indicavam que colagenases bacterianas não resistem à queda de pH durante a fase de desmineralização quando um modelo de ciclagem de pH foi utilizado (Kawasaki & Featherstone, 1997). Corroborando com a premissa de atividade endógena no desenvolvimento da doença cárie.

Tjäderhane et al. (1998) ao avaliar a participação das MMPs na progressão da cárie mostraram a atividade gelatinolítica e presença de MMPs - 2, -9 e -8 em tecido cariado. Nesse mesmo estudo, ao coletar e avaliar amostras de bactérias provenientes da saliva dos mesmos pacientes dos quais coletou tecido cariado, os autores observaram ausência de atividade gelatinolítica, dados que reforçam a participação de enzimas endógenas na progressão da cárie. Uma importante avaliação, ainda nesse mesmo estudo, mostrou que alterações no pH são capazes de ativar as MMPs. Ao incubar MMPs salivares em pH ácido (pH 2,3-5,5) e, em seguida incubá-las em pH neutro (pH 6,0-7,5), os autores observaram um aumento da quantidade de MMP-9 ativa conforme o tempo de incubação, sugerindo que ocorra uma ativação dessas enzimas pela queda no pH. Os autores ainda utilizaram água ou saliva previamente incubada em pH ácido para armazenar amostras de dentina desmineralizada. Ao final de 10 dias de armazenamento, os autores

reportaram maior degradação do colágeno por microscopia eletrônica de transmissão e de varredura quando a saliva foi utilizada. Sendo assim, os resultados indicaram maior atividade de MMPs e maior degradação da matriz orgânica dentinária quando essas enzimas foram submetidas a um pH relativamente ácido, o que sugere um mecanismo de ativação de MMPs denominado “ativação ácida”, no qual as enzimas são ativadas pelo pH próximo ao pH na desmineralização no processo de cárie (pH 4,5-5,5). Nesse mecanismo de ativação, a produção de ácidos pelas bactérias causaria a desmineralização do tecido dentinário, expondo tanto a matriz orgânica quanto as enzimas que estavam associadas à essa matriz. Uma vez expostas, essas enzimas poderiam ser também ativadas pelo pH ácido, porém só teriam condições de apresentar atividade proteolítica quando o pH voltasse para neutro. Portanto, esse mecanismo de ativação ácida seria responsável tanto pela exposição das enzimas, que antes estavam presas na matriz mineralizada, quanto pela ativação dessas mesmas enzimas após a desmineralização. A neutralização do pH ocorreria nesse caso principalmente em função da ação dos tampões presentes na própria saliva. Porém, é importante ainda considerar que a liberação de íons tais como cálcio e fosfato da própria dentina, após sua desmineralização, poderia também influenciar o processo de neutralização (Wang & Hume, 1988; Camps & Pashley, 2000).

A ativação de MMPs pelo pH ácido foi também relatada no estudo de Sulkala et al. (2001), em que os autores observaram alta atividade gelatinolítica de amostras de saliva humana após incubação com ativador de MMPs (APMA) ou ativação ácida, sendo que a atividade foi significativamente reduzida em ambos casos quando um inibidor de MMPs (tetraciclina quimicamente modificada-3) foi utilizado. Os dados reportados nesse estudo também indicaram que a atividade é dependente do pH ácido utilizado para ativação, uma vez que a incubação das amostras de saliva em pH 6,0 resultou em atividade significativamente menor comparada àquela observada após incubação das amostras em pH 4,5 ou 5,0. Neste estudo foi ainda verificada a redução do tamanho de lesões de cárie em primeiros e segundos molares de ratos quando diferentes inibidores de MMPs (tetraciclina quimicamente modificada-3 - que atua tanto sobre a atividade como síntese de MMPs - e ácido zoledrônico - que inibe atividade proteolítica sem afetar a síntese das

MMPs), associados ou não, foram usados.

Também foi demonstrado que as MMPs são importantes mediadores na formação da dentina reacional na progressão da cárie. Recentemente, Charadram et al. (2012) avaliaram a atividade gelatinolítica total e a atividade gelatinolítica correspondente a MMP-2 em diferentes regiões da lesão de cárie. Independente da região analisada foi observada maior atividade gelatinolítica no tecido cariado comparado ao tecido sadio. Porém a atividade total diminuiu nas regiões mais profundas (correspondente à dentina reacional) enquanto a atividade correspondente a MMP-2 foi maior nessas regiões. Sendo assim, foi sugerido que grande parte da atividade gelatinolítica encontrada na região profunda da lesão deveria ser atribuída à ação da MMP-2. Os autores também relataram imunomarcação mais intensa para MMP-2 em dentina reacional comparada à dentina sadia. Ainda neste estudo, os autores observaram expressão relativamente maior dos genes que codificam a síntese de MMP-2 em odontoblastos que se localizavam adjacientemente à região de dentina acometida pela cárie. Uma vez que a MMP-2 pode liberar a sialoproteína dentinária (DSP) a partir da sialofosfoproteína dentinária (DSPP) e, uma vez que a DSP é uma proteína que influencia a mineralização do tecido, os autores sugeriram que a MMP-2 estaria relacionada à formação da dentina reacional no processo de cárie. Esses resultados mostram que as MMPs são importantes enzimas na fisiopatologia da cárie, participando não apenas da destruição da matriz orgânica dentinária, mas também em outros processos, como na formação de dentina reacional.

Além das MMPs, outra classe de proteases capazes de degradar componentes da matriz extracelular que recentemente passaram a ser estudadas na estrutura dental são as cisteíno-catepsinas (CTs). As CTs pertencem ao clã CA das cisteíno-peptidases, mais especificamente pertencentes à família C1 das enzimas semelhantes à papaína. Existem 11 cisteíno-catepsinas humanas conhecidas atualmente: B, C, F, H, K, L, O, S, V, X e W. São enzimas ativas em pH levemente ácido e, apesar de serem inicialmente consideradas enzimas intracelulares, uma vez que estão localizadas nos lisossomos, atualmente esse conceito tem mudado (Turk et al., 2012). A maioria das CTs requer pH levemente ácido para sua atividade, sendo que grande parte delas atua como endopeptidase, apesar da CT-B também

atuar como carboxipeptidase e a CT-H como aminopeptidase (Turk et al., 2000).

Em dentina, estudos pioneiros que avaliam tanto a presença quanto a atividade de CTs foram recentemente publicados (Tersariol et al., 2010; Nascimento et al., 2011). A expressão gênica para diferentes CTs foi demonstrada por Tersariol et al. (2010) em tecido pulpar e em odontoblastos, sendo que os mesmos autores mostraram a presença de CT-B em dentina sadia e observaram uma correlação positiva entre a atividade de MMPs e CTs, ambas extraídas da dentina sadia.

A partir desses resultados, passou a ser considerada a hipótese de que outras enzimas além das MMPs, já identificadas em dentina sadia, como as CTs, poderiam estar envolvidas em outras patologias dentais como na cárie. Recentemente Nascimento et al. (2011) compararam a presença de CT-B em dentina sadia e cariada assim como a atividade de cisteíno-catepsinas em ambos substratos. Neste estudo, uma maior expressão de CT-B foi observada em dentina cariada e em odontoblastos quando comparados com o tecido sadio. No mesmo estudo, os autores também observaram que a atividade de CTs é maior quanto maior a profundidade da lesão de cárie sendo que para as MMPs, foi observada uma ligeira queda na atividade das mesmas em lesões mais profundas. Já a comparação de lesões ativas e lesões crônicas de acordo com as faixas etárias dos pacientes, mostrou redução na atividade de MMPs com o aumento da idade, enquanto que as CTs mostraram aumento da atividade conforme o aumento da idade dos pacientes, apenas para lesões crônicas.

De acordo com os resultados destes dois estudos sobre CTs na dentina, Nascimento et al., (2011) propuseram algumas hipóteses para explicar a origem e o papel tanto de MMPs quanto das CTs no complexo dentinopulpar bem como sua modulação na cárie. Uma vez que alta atividade de MMPs foi observada em lesões em estágios iniciais com ligeira redução em lesões mais profundas e o fato de que a atividade dessas enzimas está relacionada com a idade do paciente (com maior atividade em pacientes mais jovens), suportam a hipótese de que as MMPs ligadas à dentina, presas na matriz orgânica após sua mineralização, são as principais responsáveis pela atividade de MMPs na progressão da cárie. Porém, a atividade de CTs foi significativamente maior em

lesões mais profundas, e ainda a atividade dessas enzimas continuou alta mesmo com o aumento da idade dos pacientes, o que sugere uma origem pulpar ou por secreção odontoblástica dessas proteases.

Porém, como já relatado, nem todas as MMPs e CTs são capazes de degradar colágeno íntegro. Foi proposto que, estruturalmente, a molécula de colágeno íntegro (tripla hélice) seria maior que o sítio ativo das enzimas (Bertassoni et al., 2011). Tjäderhane et al. (2012) propuseram que a degradação do colágeno poderia ocorrer de duas formas: 1) pela ação inicial de uma enzima que pudesse desenrolar a molécula do colágeno, permitindo que colagenases degradassem uma das hélices; e 2) por uma alteração estrutural na molécula do colágeno que permitiria a sua degradação. Os danos causados à matriz orgânica dentinária durante a progressão da cárie seriam capazes de promover essas alterações estruturais, o que facilitaria a ação de MMPs e CTs na degradação da matriz orgânica na cárie. Ainda foi sugerido que, uma vez que a MMP-9 assim como as CTs, são capazes de atuar como telopeptidases (removendo os telopeptídeos da estrutura do colágeno), essas enzimas poderiam expor o sítio de clivagem do colágeno, facilitando a sua degradação por outras proteases (Tjäderhane et al., 2012). Esses dados mais uma vez corroboram com a teoria de que MMPs e CTs possam atuar em conjuntos na degradação do colágeno na cárie.

4.2 Clorexidina

A clorexidina (CHX), caracterizada por ser um poderoso anti-séptico de amplo espectro contra bactérias gram-positivas e negativas (Davies et al., 1954), é uma bisguanida com propriedades catiônicas (Nerurkar et al., 1995). O uso de soluções aquosas de CHX como agente de limpeza cavitária foi proposto com a finalidade de usufruir dos efeitos antibacterianos da solução. Não se imaginava que a mesma agiria como um inibidor inespecífico de proteases, mostrando-se capaz de reduzir a atividade das MMPs (-2, -8 e -9) em baixas concentrações (Gendron et al., 1999).

A clorexidina foi o primeiro inibidor sintético das proteases investigado que poderia aumentar a durabilidade da camada híbrida. Um estudo de Pashley *et al.* (Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. J

Dent Res. 2004 Mar;83(3):216-21) demonstrou que a exposição da dentina a uma solução aquosa de clorexidina 2% reduziu significativamente a atividade gelatinolítica do substrato. Outros estudos demonstram que a degradação mecânica e morfológica da interface adesiva pode ser significativamente reduzida se a dentina desmineralizada for tratada com CHX a 2%, antes da aplicação do sistema adesivo (Hebling et al.2005; Carrilho et al., 2007a; Carrilho et al., 2007b). Até mesmo sua substantividade à dentina por até 4 semanas foi descrita (Carrilho et al., 2010), no entanto, os mecanismos envolvidos no sucesso da CHX em estabilizar a interface adesiva ao longo do tempo (Hebling et al., 2005; Carrilho et al., 2007a,b; Breschi et al., 2010) ainda não estão bem elucidados. Além disso, é importante determinar se a CHX exerce sua função inibitória de maneira dose-dependente e, em caso afirmativo, determinar a concentração mais eficaz e também o modo pelo qual ela inibe as diferentes proteases.

A partir disso, muitos outros trabalhos foram desenvolvidos *in vivo* ou *in vitro* confirmando os efeitos benéficos da clorexidina em preservar a interface adesiva (Carrilho et al., 2007a; Carrilho et al., 2007b; Breschi et al., 2010; Ricci et al., 2010). A efetividade da clorexidina foi avaliada de acordo com diferentes itens, que foram, desde a concentração da solução utilizada (0,002 a 2%), tempo de aplicação (15 a 60 s) (Loguercio et al., 2009) e forma de aplicação (após o condicionamento ácido (Hebling et al., 2005; Carrilho et al., 2007^a), incorporado ao agente de condicionamento de dentina que podia ser o ácido fosfórico (Stanislawczuk et al., 2009; Stanislawczuk et al., 2011) ou o *primer* monomérico dos sistemas adesivos autocondicionantes (Zhou et al., 2009; Zhou et al., 2011).

A maioria dos estudos aponta que o tratamento da dentina com clorexidina propicia a formação de interfaces adesivas mais estáveis, o que pode ser atribuído ao controle da atividade proteolítica da dentina.

4.3 Inibidores sintéticos e inibidores naturais (DMSO, QUAMS, EDTA, EDC)

A quelação do cálcio e do zinco com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) inativa as MMPs e preserva as propriedades mecânicas da dentina. O EDTA como solução condicionadora pode criar uma camada híbrida que seria

mais resistente à degradação e produzir uma força de união imediata mais elevada na técnica úmida de adesão com etanol experimental. No entanto, a resistência da camada híbrida nestes estudos foi testada com exposição ao hipoclorito de sódio (NaOCl). O NaOCl dissolve completamente ou parcialmente as proteínas expostas, independente da presença, da ausência ou da inibição das enzimas ligadas ao colágeno. Embora estudos de envelhecimento em longo prazo, permitindo a função da enzima colagenolítica endógena da dentina, ainda não terem sido feitos, a durabilidade da resistência de união ainda deve ser demonstrada. Lavar o EDTA após desmineralização leva a uma significativa redução das propriedades mecânicas da dentina desmineralizada pelo EDTA acompanhado de degradação do colágeno em uma semana de incubação, indicando que a inibição das MMPs é reversível. Além disso, o tempo necessário para o eficaz condicionamento com EDTA para fins restauradores limita seu uso clínico.

As tetraciclina são antibióticos com propriedades quelantes e inibe as MMPs extracelulares. CMTs são tetraciclina quimicamente modificadas com falta de atividade antibacteriana, mas mantiveram a sua capacidade de inibição da MMPs. A doxiciclina diminui fortemente a degradação da matriz de dentina, e a CMT-3 (metastat AKA, COL-3, uma das mais potentes CMTs) é particularmente eficaz na inibição de MMPs em lesões de cárie dentinários. Os bisfosfonatos (bps) são análogos de pirofosfato com uma alta afinidade para os cristais de apatite hidroxi-apatita e eles são usados para tratar condições que envolvem a reabsorção óssea aumentada, por exemplo, Doença de Paget e osteoporose. Baseado no hidroxamato BPs, como Batimastat e Galardin, também inibir MMPs por quelação do local ativo de zinco. O ácido zoledrónico (zoledronato) é eficaz na inibição das MMPs dentina cariada.

Galardin (aka GM6001 ou ilomastat) tem uma espinha dorsal de colagénio do tipo que se liga ao centro ativo da MMP e uma estrutura companheiro hidroxi-apatita que quela o zinco catalítico de MMP domínio. Galardin tem uma atividade inibidora potente contra a MMP-1, -2, -3, -8 E -9. Galardin foi mostrado para reduzir a perda de força de ligação comparável ao efeito de CHX (Tabela 1: linha de dados complementar). O efeito foi questionaram por três estudos, onde Galardin e Batimastat (aka

BB94) [67] e SB-3CT (à base de tiol gelatinase inibidor seletivo da MMP) não conseguiram preservar a resistência de união em amostras envelhecidas. Nestes estudos, os inibidores de MMP foram utilizados em concentrações muito baixas (5-10 molar) que foram mostrados para ser eficaz contra as enzimas solúveis, enquanto Breschi et al. utilizado

Galardin 0,2 mM (a concentração mais elevada possível para alcançar uma solução aquosa saturada). Uma vez que as MMPs na camada de dentina híbrida permanecem ligados ao colágeno, a concentração de inibidores necessários para completar a inibição pode ser muito maior do que em dentina com MMPs solúveis não ligados.

3.2 grupo amônio quaternário

Ambos E & R e SE adesivos têm mostrado ativar a MMP dentina, e eles podem ser pelo menos parcialmente responsável pela atividade gelatinolítica observada na camada híbrida. O adesivo monómeros que possuem propriedades inibidoras de enzimas oferecem uma alternativa atraente para evitar a degradação hidrolítica de colagénio da camada híbrida.

Metacrilatos polimerizáveis quaternários de amônio (QAMS), especialmente brometo de 12-methacryloyloxydodecylpyridinium (MDPB) foram incorporados iniciadores SE porque possuem propriedades antimicrobianas e podem copolimerizar com monômeros adesivos. Semelhante a CHX, estes compostos são catiônicos, solúveis em água, mas ao contrário de CHX eles não podem lixiviar para fora da interface de união. QAMs solúvel inibir a MMP-9 na forma ou de forma mais eficaz como Galardin, e quase completamente inibida a degradação do colagénio dentina desmineralizada . MDPB (um componente de Clear fi I Protect Bond and Clear fi I Proteger SE) mostrou-se entre os mais eficazes. In vitro e experimentos clínicos indicaram também que QAMs (nomeadamente MDPB em Clear fi I Protect Bond) pode inibir enzimas colagenolíticas na camada híbrida. Reduções No entanto, outros estudos têm relatado na resistência de união comparáveis aos outros adesivos

2: on-line de dados suplementares), por isso pode ser muito cedo para fazer quaisquer conclusões definitivas de eficácia do fief clínico de MDPB na preservação da camada híbrida.

O cloreto de benzalcónio (BAC) é uma mistura de cloretos de alquil- benzenos zylidimethylammonium de várias cadeias de alquilo. É um agente tensioativo

catiônico com um grupo de amônio quaternário utilizado como agente antimicrobiano e surfactante. BAC contendo condicionadores pode ser usado com E & P adesivos sem afetar resistência de união imediata ao esmalte ou dentina. Tezvergil-Mutluay et al. demonstraram que 0,5% concentrações BAC inibiu completamente solúvel MMP-2,-8 Ou -9, e produziu redução significativa na degradação da desmineralização. Even colágeno da dentina que analisa o TEM em estudos de longo prazo in vitro e in vivo indicam uma boa preservação da camada híbrida com as "suaves" adesivos SE, há evidências de que, mesmo com 10-MDP - que é atualmente considerado como a forma a ligação química mais estável com hidroxiapatita - as forças de ligação não diminuem com o tempo, tanto in vitro como in vivo. Aparentemente, a zona mais fraco em amostras envelhecidas com peneira SE adesividade está localizada imediatamente abaixo da camada híbrida observada com TEM, como as fraturas coesivas da dentina (quando observada com SEM) aumentou significativamente em um estudo in vivo. É possível que a perda de integridade de colágeno ocorre ainda na base da camada híbrida devido a vazios e nanoinfiltração que é praticamente indetectável com as técnicas atuais de MET. Isto é apoiado pelo trabalho de Kim et ai., em que alcalina incubação buffer de linha glicina causou a camada híbrida basal a desaparecer, criando um 1-2 m gap entre a parte superior intacta da camada híbrida e a base de dentina mineralizada que era facilmente detectável com SEM e microscopia confocal em Apesar das camadas híbridas vez mais perfeitos parecessem em suas respectivas imagens de TEM. Como os monômeros ácidos requer água para a sua ionização e decapagem, os monômeros na parte inferior da camada híbrida poderia ser menos polimerizada, causando a degradação hidrolítica dos monômeros hidrofílicos, com a subsequente exposição e ysis hydrol- de colágeno, e finalmente uma perda de título força.

Se aceita-se que a degradação enzimática de colágeno não é completamente eliminada nas partes mais profundas da camada híbrida, mesmo com o adesivo SE monômeros funcionais "suave", a necessidade de inibição da enzima ainda é aparente. Esta suposição é realmente apoiada por alguns estudos. Adicionando CHX na cartilha auto-condicionante de Clear fi I signi fi SE Bond ativamente melhorou a resistência de união de 12 meses. Além disso, a utilização do iniciador auto-condicionante contendo MDPB (Clear fi I Protect

Bond) com atividade inibidora de MMP-(ver detalhes acima) foi mostrado para preservar a resistência adesiva da dentina quer in vivo e in vitro.

Além dos inibidores sintéticos, novos estudos surgiram para avaliar a efetividade de inibidores naturais sobre a atividade proteolítica da dentina.

Os polifenóis representam metabólitos que são produzidos por plantas provavelmente como parte do seu mecanismo de defesa. Diferentes classes de compostos polifenólicos são comumente observadas em plantas, entre eles os ácidos fenólicos, flavonóides, estilbenos e lignanas 63

Extratos de plantas ricos em polifenóis demonstram intensa bioatividade com os componentes da matriz celular e extracelular. Particularmente, fontes ricas em protoantocianidina (PAC) possuem direta aplicação no campo odontológico com o objetivo de aumentar as propriedades biomecânicas e a bioestabilidade da dentina (Bertassoni et al., 2012; Bjørnnda et al., 2001).

Desde 2007, o tema sobre os *cross-linkers* naturais de colágeno da dentina tem atraído cada vez mais atenção. Estudos de PACs ou extratos ricos em PACs centraram-se principalmente na sua capacidade de melhorar as propriedades mecânicas do tecido, bem como para reduzir a biodegradação do tecido por proteases exógenas ou endógenas (Bedan et al., 2008; Bedra et al., 2007; Broyles et al., 2013; Pavan et al., 2011; Santos et al., 2011a; Santos et al., 2011b; Castellan et al., 2011; Bedran et al., 2011; Castellan et al., 2010a; Castellan et al., 2010b; Macedo et al., 2009; Al-Ammar et al., 2009; Liu et al., 2013a; Liu et al., 2013b; Hechler et al., 2012; Fang et al., 2012; Green et al., 2010). Outros extratos ricos em PACs, como o extrato da semente de cacau, também mostraram diminuir consideravelmente a degradação enzimática e aumentar a rigidez da dentina (Castellan et al., 2010a; Castellan et al. 2010b). Entretanto, é um processo que concentração e tempo dependente que também pode causar uma coloração amarronzada na dentina. As descolorações descritas na literatura estão relacionadas aos PACs de alto peso molecular e seus produtos de oxidação. Estudos atuais estão em andamento para elucidar os mecanismos químicos e determinar métodos para produzir materiais ricos em PAC que não causem descoloração.

A inibição de proteases pelo PACs foi investigada extensivamente para várias aplicações sistêmicas e mostram evitar, reduzir ou reverter o câncer 99 devido a inibição da atividade das MMPs 99, 100. Compostos isolados de PAC

de cranberry apresentaram efeitos inibitórios de MMPs associados com redução da progressão da doença periodontal (Bodet et al., 2007; La et al., 2009; Tipton et al., 2012). Os efeitos diretos do PACs em proteases endógenas ampliam sua aplicação como um agente para terapias reparativas e preventivas dos tecidos duros dentais.

5 DISCUSSÃO

O maior desafio da Odontologia adesiva é obter uma adesão igualmente efetiva para dois tecidos duros de natureza diferente: esmalte e dentina. Embora muitos trabalhos revelem excelente efetividade da adesão imediata e em curto prazo (INOUE et al., 2001), a durabilidade e estabilidade da interface adesiva na dentina continuam sendo questionáveis (CARRILHO et al., 2005; DE MUNCK et al., 2005; TAY et al., 2005). Estudos destacam que os valores imediatos de resistência adesiva nem sempre se correlacionam com a estabilidade adesiva em longos períodos de tempo visto que a degradação ao longo da interface em dentina ocorre rapidamente (CARRILHO et al., 2005; TAY et al., 2005).

A degradação da camada híbrida pode ocorrer por dois processos: a degradação hidrolítica do sistema adesivo e a degradação da matriz de colágeno.

A degradação hidrolítica do material de união se faz por meio da sorção de água e da nanoinfiltração e são diretamente proporcionais as características hidrofílicas dos sistemas adesivos. A sorção de água é uma das principais causas que desestabiliza a adesão entre o sistema adesivo e a estrutura dentária, embora os mecanismos envolvidos na degradação da interface ainda não sejam bem esclarecidos (VAN MEERBEEK et al., 2010). A incorporação de água na composição dos sistemas adesivos autocondicionantes de frasco único é necessária para que ocorra a ionização dos monômeros ácidos. Além da água, os monômeros ácidos possuem partes ionizáveis que também são hidrofílicas e pode induzir a sorção de água comprometendo a estabilidade do polímero (Hashimoto, 2009). Nos sistemas adesivos convencionais de 2 passos, monômeros hidrofílicos e hidrofóbicos estão juntos com grande quantidade de solventes para mantê-los em solução portanto, também estão susceptíveis a degradação hidrolítica. Adesivos de frasco único, convencionais

ou autocondicionantes, são misturas complexas de monômeros hidrofóbicos e hidrofílicos diluídos em combinações de solventes (Monticelli et al., 2007). Idealmente, um sistema adesivo deveria ser composto à base de monômeros hidrofóbicos, o que conferiria maior durabilidade clínica ao material. Entretanto, são acrescentados diluentes para que o adesivo penetre nas microporosidades criadas nos tecidos dentais durante a hibridização pela característica hidrofílica da dentina.

A instabilidade da interface adesiva também é atribuída à natureza da camada híbrida que se comporta como uma membrana semi-permeável e a esse fenômeno deu-se o nome de nanoinfiltração. Ao mesmo tempo em que a água é fundamental para a obtenção da adesão ela é uma das responsáveis pela degradação do material. Na presença de água durante a polimerização do material, a conversão de monômeros em polímeros é prejudicada e o material se torna ainda mais susceptível a absorção de água, prejudicando diretamente suas propriedades mecânicas e durabilidade 106.

A degradação da matriz de colágeno ocorre quando é exposta pelo condicionamento ácido e não protegida pela resina adesiva. Se todas as fibrilas de colágeno expostas fossem envolvidas pelo sistema adesivo, as MMPs não teriam livre acesso à água, uma condição essencial para a ativação dessas enzimas (PASHLEY et al., 2011). Muitos estudos (Pashley, 2004; Hebling, 2005, Carrilho) vêm sendo realizados para testar a hipótese de que a degradação das fibrilas de colágeno ocorre em função de um mecanismo proteolítico endógeno por meio da ativação das metaloproteinases de matriz (MMP) por ácidos fracos, como o ácido láctico produzido por bactérias da lesão cáries, e condicionadores ácidos utilizados com os sistemas adesivos. O emprego do ácido fosfórico pode ser responsável pela reativação de enzimas colagenolíticas antes inativadas pela deposição dos cristais de hidroxiapatita (Hashimoto et al., 2003; Pashley et al., 2004; Mazzoni et al., 2006; Carrilho et al., 2009). Alguns monômeros constituintes dos sistemas adesivos sejam eles etch-and-rinse e ou self-etch, por sua característica ácida também tem sido considerados promotores da ativação de enzimas endógenas da matriz dentinária responsáveis pela degradação do colágeno (Mazzoni et al., 2006; Nishitani et al., 2006; Moon et al., 2010). Estas enzimas podem trazer conseqüências para a integridade do colágeno da matriz em decorrência da

ação de enzimas da própria dentina (Carrilho et al., 2009; Mazzoni et al., 2011a,b; Mazzoni et al., 2012). Se por um lado o condicionamento ácido aumenta a resistência da interface adesiva de forma imediata, por outro, parece contribuir para a redução de sua longevidade pela reativação de enzimas capazes de degradar o colágeno.

Dados recentes mostram que odontoblastos e tecido da polpa possuem as sequências de DNA da maioria das cisteíno-catepsinas, sugerindo que, em termos de expressão de proteínas, a variedade de cisteíno-catepsinas presentes no complexo dentino-polpar pode ser comparada ao descrito para as MMPs. A atividade das cisteíno-catepsinas foi demonstrada em dentina intacta e cariada, e a catepsina B, localizada nos túbulos dentinários. Uma vez sintetizada pelos odontoblastos e/ou tecido pulpar, as cisteíno-catepsinas secretadas podem facilmente chegar aos túbulos dentinários e entrar profundamente na dentina. As restaurações diretas são praticamente feitas em dentes cariados com, pelo menos, algum grau de inflamação da polpa. É possível que o aumento dos níveis de cisteíno-catepsinas está presentes também nos túbulos dentinários sob a restauração. A maioria das potenciais interações entre as MMPs e cisteíno-catepsinas na dentina ainda baseiam-se em pesquisas com outros tecidos, e deve ser considerada especulativa até mais trabalhos forem executados em dentina.

6 CONCLUSÃO

As metaloproteinases de matriz (MMPs) e as cisteíno-catepsinas da dentina mineralizada e fluido de dentina além de contribuírem para a evolução da cárie dentária e erosão, são responsáveis pela degradação enzimática da matriz colágena da camada híbrida. Diversas estratégias experimentais, que visam melhorar a durabilidade da resistência de união entre resina-dentina por meio da inibição da degradação enzimática do colágeno, são estudadas intensamente. Embora haja muito trabalho a ser feito, como, identificar as enzimas-chave e encontrar meios opcionais de inibição que não afetariam a resistência de união imediata, mas continuariam a ter efeito durante anos, os dados disponíveis atualmente são excelentes promessas de que uma interface de adesão estável será rotineiramente disponível na clínica diária em um futuro próximo.

7 REFERÊNCIAS

- AL-AMMAR, Drummond JL, Bedran-Russo AK. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res Part B, Appl Biomater.* 2009; 91:419–24. [PubMed: 19507140]
- BEDRAN-RUSSO, Castellan CS, Shinohara MS, Hassan L, Antunes A. Characterization of biomodified dentin matrices for potential preventive and reparative therapies. *Acta Biomater.* 2011; 7:1735–41. [PubMed: 21167964]
- BEDRAN-RUSSO, Pashley DH, Agee K, Drummond JL, Miescke KJ. Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. *J Biomed Mater Res Part B, Appl Biomater.* 2008; 86:330–4. [PubMed: 18161815]
- BEDRAN-RUSSO, Pereira PN, Duarte WR, Drummond JL, Yamauchi M. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *J Biomed Mater Res Part B, Appl Biomater.* 2007; 80:268–72. [PubMed: 16767722]
- BERTASSONI, Orgel JPR, Antipova O, Swain MV. The dentin organic matrix – limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. *Acta Biomater.* 2012; 2419-2433.
- BJØRNDAL, Mjør IA. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 4: Dental caries characteristics of lesions and pulpal reactions. *Quint Int.* 2001; 32(9): 717-736.
- BODET, Chandad F, Grenier D. Inhibition of host extracellular matrix destructive enzyme production and activity by a high-molecular-weight cranberry fraction. *J Periodontal Res.* 2007; 42:159–68. [PubMed: 17305875]
- BRESCHI, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, et al. (2010). Use of a specific MMP inhibitor (Galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater* 26:571– 578.
- BROYLES, Pavan S, Bedran-Russo AK. Effect of dentin surface modification on the microtensile bond strength of self-adhesive resin cements. *J Prosthodont.* 2013; 22:59–62. [PubMed: 22762448]
- CAMPS, Pashley DH. Buffering action of human dentin in vitro. *J Adhes Dent.* 2000; 2:39-50.

- CARRILHO, Carvalho RM, Sousa EN, Nicolau J, Breschi L, Mazzoni A, et al. (2010). Substantivity of chlorhexidine to human dentin. *Dent Mater* 26:779-785.
- CARRILHO, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, et al. (2007). In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res* 86:529-533.
- CARRILHO, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, et al. (2007). In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res* 86:529-533.,
- CARRILHO, Geraldeli S, Tay FR, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L et al (b). In vivo preservation of hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res*. 2007; 86: 529-533.
- CARRILHO, MR.; CARVALHO, R.M.; DE GOES, M.F.; DI HIPOLITO, V.; GERALDELI, S.; TAY, F.R.; et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. (a) *J Dent Res*. V,86, p.90-74. 2007.
- CARVALHO, R.M, sistemas adesivos; fundamentos para aplicação clínica. *Biodonto*, v2,n1, p.1-86, jan/fev. 2004
- CASTELLAN, Bedran-Russo AK, Karol S, Pereira PN. Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2011; 4:1343–50. [PubMed: 21783144]
- CASTELLAN, Pereira PN, Grande RH, Bedran-Russo AK. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. *Dent Mater*. 2010; 26:968–73. [PubMed: 20650510]
- CASTELLAN, Pereira PN, Grande RH, Bedran-Russo AK. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. *Dent Mater*. 2010; 26:968–73. [PubMed: 20650510]
- CASTELLAN, Pereira PN, Viana G, Chen SN, Pauli GF, Bedran-Russo AK. Solubility study of phytochemical cross-linking agents on dentin stiffness. *J Dent*. 2010; 38:431–6. [PubMed: 20171257]
- CASTELLAN, Pereira PN, Viana G, Chen SN, Pauli GF, Bedran-Russo AK. Solubility study of phytochemical cross-linking agents on dentin stiffness. *J Dent*. 2010; 38:431–6. [PubMed: 20171257]
- CHARADRAM, Farahani RM, Harty D, Rathsam C, Swain MV, Hunter N. Regulation of reactionary dentin formation by odontoblasts in response to polymicrobial invasion of dentin matrix. *Bone*. 2012; 50: 265-275.
- CHENG, Kuzuya M, Kanda S, Maeda K, Sasaki T, Wang QL, et al. Epigallocatechin-3-gallate binding to MMP-2 inhibits gelatinolytic activity without

influencing the attachment to extracellular matrix proteins but enhances MMP-2 binding to TIMP-2. *Arch Biochem Biophys* 2003;415(1);126-32.

DAVIES, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G. 1:6-Di-4'-chlorophenyldiguanidohexane (hibitane); laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *Br J Pharmacol Chemother* 1954;9:192-196.

DAYAN, Binderman I, Mechanic GL. A preliminary study of activation of collagenase in carious human dentine matrix. *Arch Oral Biol.* 1983; 28:185–7.

DOS SANTOS, Karol S, Bedran-Russo AK. Long-term nano-mechanical properties of biomodified dentin-resin interface components. *J Biomech.* 2011; 44:1691–4. [PubMed: 21530969]

DOS SANTOS, Karol S, Bedran-Russo AK. Nanomechanical properties of biochemically modified dentin bonded interfaces. *J Oral Rehab.* 2011; 38:541–6.

FANG, Liu R, Xiao Y, Li F, Wang D, Hou R, et al. Biomodification to dentin by a natural crosslinker improved the resin-dentin bonds. *J Dent.* 2012; 40:458–66. [PubMed: 22366684]

GARONE NETTO N. Introdução à dentística restauradora. São Paulo: Santos; 2003.

GENDRON, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8 and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6:437-439.

GREEN, Yao X, Ganguly A, Xu C, Dusevich V, Walker MP, et al. Grape seed proanthocyanidins increase collagen biodegradation resistance in the dentin/adhesive interface when included in an adhesive. *J Dent.* 2010; 38:908–15. [PubMed: 20709136]

HEBLING, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR (2005). Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res* 84:741-746.

HEBLING, PASHLEY DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res.* 2005; 84: 741-746.

HEBLING, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res* 2005; 84:741-746.

HECHLER, Yao X, Wang Y. Proanthocyanidins alter adhesive/dentin bonding strengths when included in a bonding system. *Amer J Dent.* 2012; 25:276–80. [PubMed: 23243975]

KATIYAR. Matrix metalloproteinases in cancer metastasis: molecular targets for prostate cancer prevention by green tea polyphenols and grape seed proanthocyanidins. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2006; 6:17–24. [PubMed: 16611161]

Kawasaki K & Featherstone JDB. Effects of Collagenase on Root Demineralization. *J Dent Res*. 1997; 76: 588.

LA, Howell AB, Grenier D. Cranberry proanthocyanidins inhibit MMP production and activity. *J Dent Res*. 2009; 88:627–32. [PubMed: 19641150]

LIU, Chen M, Yao X, Xu C, Zhang Y, Wang Y. Enhancement in dentin collagen's biological stability after proanthocyanidins treatment in clinically relevant time periods. *Dent Mater*. 2013; 29:485–92. [PubMed: 23434233]

LIU, Wang Y. Proanthocyanidins' efficacy in stabilizing dentin collagen against enzymatic degradation: MALDI-TOF and FTIR analyses. *J Dent*. 2013; 41:535–42. [PubMed: 23578472]

MACEDO, Yamauchi M, Bedran-Russo AK. Effects of chemical cross-linkers on caries-affected dentin bonding. *J Dent Res*. 2009; 88:1096–100. [PubMed: 19892915]

MAZZONI, Nascimento FD, Carrilho M, Tersariol I, Papa V, Tjäderhane L, et al. (2012). MMP activity in the hybrid layer detected with in situ zymography. *J Dent Res* 91:467– 472.

MAZZONI, Papa V, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, Ruggeri A et al. Immunohistochemical and biochemical assay of MMP-3 in human dentine. *J Dent*. 2011; 39(3): 231-237.

NASCIMENTO, Minciotti CL, Geralde Li S, CarrilhoMR, Pashley DH, Tay FR et al. (2011). Cysteine cathepsins in human carious dentin. *J Dent Res* 90(4):506-511.

NERURKAR, Zentner GM, Howard Rytting J. Effect of chloride in the releasing of chlorhexidine salts from methyl methacrylate: 2-hydroxyethyl methacrylate copolymer reservoir devices. *J Control Release* 1995; 33:357-363.

NISHITANI, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A et al. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci*. 2006; 114: 160-166.

PANDEY KANTI, Rizvi Syed I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2009; 2:270–8. [PubMed: 20716914]

- PASHLEY, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, et al. (2011). State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater* 27:1-16.
- PASHLEY, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*. 2004; 83: 216-221.
- PASHLEY, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. (2004). Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 83:216-221.
- PASHLEY, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S (2004). Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 83:216-221.
- PAVAN, Xie Q, Hara AT, Bedran-Russo AK. Biomimetic approach for root caries prevention using a proanthocyanidin-rich agent. *Caries Res*. 2011; 45:443–7. [PubMed: 21860242]
- SCODITTI, Calabriso N, Massaro M, Pellegrino M, Storelli C, Martines G, et al. Mediterranean diet polyphenols reduce inflammatory angiogenesis through MMP-9 and COX-2 inhibition in human vascular endothelial cells: a potentially protective mechanism in atherosclerotic vascular disease and cancer. *Arch Biochem Biophys*. 2012; 527:81–9. [PubMed: 22595400]
- SULKALA, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjäderhane L. The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, enamelysin) in mature human teeth. *J Dent Res*. 2002; 81(9): 603-607.
- SULKALA, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Teronen O, Salo T et al. The Effects of MMP Inhibitors on Human Salivary MMP Activity and Caries Progression in Rats. *J Dent Res*. 2001; 80: 1545-49.
- TERSARIOL, Geraldeli S, Minciotti CL, Nascimento FD, Pääkkönen V, Martins MT et al. Cysteine Cathepsins in Human Dentin-Pulp Complex. *J Endod*. 2010; 36: 475–481.
- TIPTON, Babu JP, Dabbous MK. Effects of cranberry components on human aggressive periodontitis gingival fibroblasts. *J Periodontal Res*. 2012; 48:433–42. [PubMed: 23106206]
- TJÄDERHANE, Carrilho MR, Breschi L, Tay FR, Pashley DH. Dentin basic structure and composition – an overview. *Endod. Topics*. 2012; 20: 3–29.
- TJÄDERHANE, Larjaval H, Sorsa T, Uitto V, Lannas M, Salo T. The Activation and Function of Host Matrix Metalloproteinases in Dentin Matrix Breakdown in Caries Lesions. *J Dent Res*. 1998; 77(8): 1622-1629.

- TURK, Stoka V, Vasiljeva O, Renko M, Sun T, Turk B et al. Cysteine cathepsins: From structure, function and regulation to new frontiers. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1824: 68–88.
- TURK, Turk D, Turk V. Lysosomal cysteine proteases: more than scavengers. *Biochim Biophys Acta*. 2000; 1477: 98-111.
- VAN MEERBEEK, B. et.al.. The Clinical performance of adhesives. *J. of Dent., Kindlington*, v. 26, n. 1, p. 1-20, 1998.
- VISSE, Nagase H. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases: Structure, Function, and Biochemistry. *Circ Res*. 2003; 92 :827-839.
- WANG JD & Hume WR. Diffusion of hydrogen ion and hydroxyl ion from various sources through dentine. *Int Endod J*. 1988; 21(1):17:26.
- CARRILHO, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res*. 2007;86:529-33.
- HEBLING, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res*. 2005;84:741-6.
- CARRILHO, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res*. 2007;86:90-4.
- LOGUERCIO, Stanislawczuk R, Polli LG, Costa JA, Michel MD, Reis A. Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin-dentin bond strength durability. *Eur J Oral Sci*. 2009;177:587-96.
- STANISLAWCZUK, Amaral RC, Zander-Grande C, Gagler D, Reis A, Loguercio AD. Chlorhexidine- containing acid conditioner preserves the longevity of resin-dentin bonds. *Oper Dent*. 2009;34:481-90.
- ZHOU, Tan J, Chen L, Li D, Tan Y. The incorporation of chlorhexidine in two-step self-etching adhesive preserves dentin bond in vitro. *J Dent*. 2009;37:807-12.
- BRESCHI, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjäderhane L, et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface over time: a 2-year in vitro study. *Dent Mater*. 2010;26:320-5.
- RICCI, Sanabe ME, de Souza Costa CA, Pashley DH, Hebling J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci*. 2010;118:411-6.

STANISLAWCZUK, Reis A, Loguercio AD. A 2-year in vitro evaluation of a chlorhexidine-containing acid on the durability of resin-dentin inter-faces. *J Dent.* 2011;39:40-7.

ZHOU, Tan J, Yang X, Xu X, LiD, Chen L. MMP-inhibitory effect of chlorhexidine applied in a self-etching adhesive. *J Adhes Dent.* 2011;13:111-5.



ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ata de Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de Rafael Medeiros Bueno.

Ao dia vinte de novembro de dois mil e quinze, reuniu-se a banca examinadora do trabalho apresentado como Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de RAFAEL MEDEIROS BUENO, intitulado: **“Novas estratégias para preservar a camada híbrida.”** Compuseram a banca examinadora os professores Dra. Karin Cristina da Silva Modena (orientadora), Dra. Marcela Pagani Calabria e Ms. Débora Barrozo Legramandi Milreu. Após a exposição oral, o candidato foi arguido pelos componentes da banca que se reuniram, e decidiram, aprovado, com a nota 9,0 a monografia. Para constar, fica redigida a presente Ata, que aprovada por todos os presentes, segue assinada pela Orientadora e pelos demais membros da banca.

Dra. Karin Cristina da Silva Modena (Orientadora)

Dra. Marcela Pagani Calabria (Avaliador 1)

Ms. Débora Barrozo Legramandi Milreu (Avaliador 2)

↳ Dra. Maria Cecília Veronezi Daher.