

Avaliação da resistência de união a dentina sadia tratada com Epigallocatequina-3-galato

Evaluation of bond strength to healthy dentin treated with Epigallocatechin-3-gallate

Evaluación de la fuerza de adhesión a la dentina sana tratada con Epigallocatequina-3-galato

Recebido: 07/06/2022 | Revisado: 17/06/2022 | Aceito: 28/06/2022 | Publicado: 07/07/2022

Myrella Do Nascimento Correia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2567-6387>
Universidade CEUMA, Brasil
E-mail: myrella-97@hotmail.com

Pedro Henrique de Aguiar Moreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6228-2467>
Universidade CEUMA, Brasil
E-mail: opedrohenrique@yahoo.com

Patrick Pereira Garcia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4159-4162>
Universidade CEUMA, Brasil
E-mail: garcia.odont@gmail.com

Andres Felipe Millan Cardenas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7434-3327>
Universidade CEUMA, Brasil
E-mail: andresfelipemillancardenas@hotmail.com

Fabiana Suelen Figüêredo de Siqueira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1079-3476>
Universidade CEUMA, Brasil
E-mail: fabisfsiqueira@hotmail.com

Melissa Proença Nogueira Fialho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2153-8788>
Universidade CEUMA, Brasil
E-mail: melissa-fialho@hotmail.com

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de diferentes concentrações de soluções de Epigallocatequina-3-galato (EGCG) na interface resina/dentina. Superfícies dentinárias sadias foram aleatorizadas em 4 grupos (EGCG 2%; EGCG 6%, clorexidina e controle). Após aplicação do ácido, EGCG foi aplicada seguida pelo adesivo. Um bloco de resina foi construído e recortados espécimes com interface adesiva para ensaio mecânico de microtração e obtenção dos valores de resistência de união e análise do modo de fratura, após 24h. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA 1 fator e pós teste de Tuckey com $\alpha = 5\%$. Os resultados mostraram que o uso da EGCG a 2% e 6% aumentou os valores de resistência adesiva em 24h, sem diferença estatisticamente significativas entre elas, enquanto que o grupo controle e da clorexidina diferiram dos dois primeiros, mas não tiveram diferença entre si. Desta forma, a aplicação da EGCG nas concentrações de 2% e 6%, como parte do protocolo restaurador adesivo, mostrou-se eficaz para aumentar a resistência de união após 24h de realizada a restauração.

Palavras-chave: Dentina; Catequina; Adesivos dentinários.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of applying different concentrations of Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) solutions at the resin/dentin interface. Healthy dentin surfaces were randomized into 4 groups (EGCG 2%; EGCG 6%, chlorhexidine and control). After application of the acid, EGCG was applied followed by the adhesive. A resin block was constructed and specimens with an adhesive interface were cut for microtensile mechanical testing and to obtain bond strength values and fracture mode analysis, after 24h. Data were statistically analyzed by 1-way ANOVA and post Tuckey test with $\alpha = 5\%$. The results showed that the use of 2% and 6% EGCG increased the values of adhesive strength at 24h, with no statistically significant difference between them, while the control and chlorhexidine groups differed from the first two, but had no difference between them. Thus, the application of EGCG at concentrations of 2% and 6%, as part of the adhesive restorative protocol, proved to be effective in increasing the bond strength after 24h of the restoration.

Keywords: Dentin; Catechin; Dentin-bonding agents.

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de aplicar diferentes concentraciones de soluciones de Epigallocatequina-3-galato (EGCG) en la interfase resina/dentina. Las superficies de dentina sana se aleatorizaron en 4 grupos (EGCG 2 %; EGCG 6 %, clorhexidina y control). Después de la aplicación del ácido, se aplicó EGCG seguido del adhesivo. Se construyó un bloque de resina y se cortaron especímenes con interfase adhesiva para ensayos mecánicos de microtracción y para obtener valores de fuerza de unión y análisis del modo de fractura, después de 24h. Los datos se analizaron estadísticamente mediante ANOVA de 1 vía y prueba posterior a Tuckey con $\alpha = 5\%$. Los resultados mostraron que el uso de EGCG al 2% y 6% incrementó los valores de fuerza adhesiva a las 24h, sin diferencia estadísticamente significativa entre ellos, mientras que los grupos control y clorhexidina se diferenciaron de los dos primeros, pero no tuvieron diferencia entre ellos. . Por lo tanto, la aplicación de EGCG en concentraciones de 2% y 6%, como parte del protocolo de restauración adhesiva, demostró ser eficaz para aumentar la fuerza de unión después de 24 horas de la restauración.

Palabras clave: Dentina; Catequina; Recubrimientos dentinarios.

1. Introdução

Atualmente, o maior problema da Dentística restauradora é o insucesso das restaurações adesivas a longo prazo, isso se dá pela complexidade do substrato dentinário e devido à dificuldade em criar uma excelente união entre o material restaurador e a dentina (Gerhardt *et al.*, 2016). A formação da camada híbrida é essencial para que haja a adesão, sendo está o resultado da remoção de fosfatos de cálcio, exposição das fibras colágenas e de microporos na superfície de esmalte e dentina após condicionamento ácido e posteriormente da difusão do sistema adesivo nas microporosidades criadas após o condicionamento (Monteiro *et al.*, 2013; Nakajima *et al.*, 2011). Porém, quando as fibras colágenas não são totalmente englobadas pelo sistema adesivo, parte dessas fibras ficam expostas (Fialho *et al.*, 2019) e vulneráveis para ação de enzimas degradantes de colágeno, as metaloproteinases de matriz (MMPs), que afetam a qualidade da camada híbrida e podem causar nanoinfiltrações, levando ao insucesso das restaurações (Gerhardt *et al.*, 2016).

As MMPs são enzimas dependente de cálcio e zinco, e são ativadas pela combinação da queda do pH durante o condicionamento ácido, seguido pelo aumento do pH durante a aplicação do adesivo (Monteiro *et al.*, 2013). Elas participam de processos patológicos e fisiológicos em todo o organismo, e especificamente no tecido dentário atuam provocando a degradação da matriz extracelular (MEC). A MMP-2 e a MMP-9 são denominadas gelatinases, que são aptas em degradar colágeno tipo IV (presente na dentina). Após descoberta a ação dessas enzimas endógenas, estudos foram concentrados em descobrir inibidores da atividade das MMPs, para que fosse reduzido os danos causados às fibras colágenas e, conseqüentemente à camada híbrida (Silva *et al.*, 2019).

Dentre os inibidores, existem os sintéticos, como no caso da clorexidina (CHX), e os naturais, como a Epigallocatequina-3-galato (EGCG), que é um polifenol derivado do chá verde (Monteiro *et al.*, 2013). A CHX atua como um inibidor não específico das MMPs modificando a estrutura tridimensional e quelando os íons metálicos de cálcio e zinco (Ca^{2+} , Zn^{2+}), que são fundamentais para ativação da sua ação enzimática. Uma vantagem da clorexidina é que ela possui alta substantividade, que é a capacidade de permanecer por um tempo adequado na cavidade bucal, além de ser capaz de inativar todas as MMPs existentes na dentina, mesmo em baixas concentrações. Alguns autores já relataram a eficácia da CHX quando aplicada depois do condicionamento ácido (Junior *et al.*, 2016).

Por outra mão, a Epigallocatequina-3-galato é a mais abundante das catequinas e provavelmente a responsável pela ação orgânica do chá verde (Gerhardt *et al.*, 2016), têm propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias, além de ser capaz de inibir a atividade das MMPs (Yang *et al.*, 2016; Zhang, Zhongni *et al.*, 2020). Se liga às colagenases através de pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas, atuando como uma Proantocianidina que forma complexos insolúveis com proteínas, por isso, é considerada um agente reticulador (Fialho *et al.*, 2019). Em vista disso, foi relatado que o pré-tratamento da dentina com a EGCG promove a estabilidade da interface adesiva (Gerhardt *et al.*, 2016), além de manter a integridade do colágeno presente na dentina, através da inibição de proteases que levam a capacidade de reticulação na dentina (Costa *et al.*,

2020).

Algumas pesquisas realizadas recentemente mostraram o efeito benéfico da ECGC na formação de uma camada híbrida, especialmente quando sistemas adesivos de condicionamento total foram utilizados (Macedo et al., 2018; Fialho et al., 2019; Yu et al., 2021). No entanto, pouco se sabe sobre o comportamento da interface adesiva quando sistemas adesivos autocondicionantes de dois passos são empregados. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de diferentes concentrações de soluções de Epigalocatequina-3-galato (ECGC) na interface resina/dentina. A hipótese nula testada foi que a aplicação de

Epigalocatequina-3-galato não afeta a resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante de dois passos.

2. Metodologia

Aspectos éticos, seleção e preparação dos dentes

Este estudo faz parte de um projeto mais abrangente cujo título é “Efeito de diferentes concentrações de soluções de Epigalocatequina-3-galato na durabilidade de união e nanoinfiltração na interface adesiva em dentina afetada por cárie” aprovado previamente pela Comissão de Ética em Pesquisa, sob parecer nº: 1.468.737.

Para o cálculo amostral foi considerada a média de resistência de união do adesivo Clearfil SE bond. De acordo com a literatura, a média e o desvio padrão da resistência de união é de $37,16 \pm 5,0$ Mpa (Marchesi et al., 2012; Walter et al., 2012; Ahmed., 2020; Ahmed et al., 2019). Utilizando um teste bilateral, com um α de 0,05, ajustado para um poder de 80%, o tamanho mínimo de dentes foi de 5 em cada grupo para detectar uma diferença de 10 MPa entre os grupos testados. O cálculo amostral foi realizado no www.sealedenvelope.com

Vinte terceiros molares humanos hígidos foram selecionados para serem utilizados no presente estudo. Os dentes foram desinfetados em cloramina aquosa a 0,5% e armazenados em água destilada à 4°C até o uso. O esmalte oclusal foi removido com um disco diamantado, sob refrigeração com água em uma máquina de corte (Isomet, Buehler; Lake Bluff, IL, EUA) para obter superfícies de dentina média planas. O esmalte circundante também foi removido com uma ponta diamantada em uma peça de mão de alta velocidade (# 3195, KG Sorensen; Barueri, Brasil) com irrigação à água. As superfícies de dentina foram cuidadosamente examinadas sob um estereomicroscópio (Olympus SZ40, Tokyo, Japão) com ampliação de 30x para confirmar a ausência de “ilhas” de esmalte. As superfícies de dentina exposta foram polidas com lixas de carboneto de silício #600 de gramatura sob água corrente por 30s para obter uma camada de smear layer uniforme e padronizada (Tabela 1).

Tabela 1. Materiais, composição e modo de aplicação.

| Material | Composição | Modo de Aplicação |
|---|--|---|
| Clorexidina (Cleanform Solução 2%, Fórmula e Ação, São Paulo, SP, Brasil). | Digluconato de clorexidina 2% | Aplicação passiva de 20 µl da solução por 60 segundos. |
| Epigallocatequina-galato do chá verde (código do produto: E4268) Sigma Aldrich, St Louis, MO, EUA) | Epigallocatequina galato (C22H18O11) | Aplicação passiva de 20 µl da solução diluída nas diferentes concentrações (2% e 6%) por 60 segundos.* |
| Clearfil SE Bond autocondicionante (Kuraray Noritake Dental Inc. 1621 Sakazu, Kurashiki, Okayama 710-0801, Japan) | O kit consiste em um primer ácido (autocondicionante) e um agente de união (bond). Primer (autocondicionante) Principais ingredientes: - 10-metacriloxidecíl diidrogeniofosfato (MDP). - 2-hidroxietil metacrilato (HEMA). - Dimetacrilato hidrófilo. - Canforoquinona. - N.N-dietanol-p-toluidina água. Bond (agente de união) Principais ingredientes: - 10-metacriloxidecíl diidrogeniofosfato (mdp). - Bis-fenol a glicidil dimetacrilato (Bis-GMA). - 2-hidroxietil metacrilato (HEMA). - Dimetacrilato hidrófobo. - Canforoquinona. - N.N-dietanol-p-toluidina. - Sílica coloidal silanizada. | 1-Aplicar o Primer ativamente por 20", utilizar levemente o jato de ar e não há necessidade de fotopolimerizar. 2-Aplicar Bond com um leve jato de ar 3- Fotopolimerização por 10".** |

** Aplicação do sistema adesivo de acordo com as instruções do fabricante. Fonte: * A aplicação foi realizada de acordo com Fialho M et al 2019.

Delineamento Experimental

Os dentes foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos (n = 5) com base no tipo de solução de tratamento empregado: 1) NT: Nenhum tratamento aplicado (grupo controle); 2) EGCG 2: Solução de Epigallocatequina-3-galato a 2%.; 3) EGCG 6: Solução de Epigallocatequina-3-galato a 6%.; 4) CLX: Solução de clorexidina 2% (controle positivo).

Procedimento restauradores

Esse procedimento foi realizado por um único operador que foi previamente calibrado. A solução de EGCG foi diluída na concentração de 2% e 6%. Tais concentrações foram determinadas pelos resultados prévios obtidos nos trabalhos de Fialho et al. (2019) e Gerhardt et al. (2016).

O volume de ambas as soluções empregados (CLX e EGCG) foi de 20µl por superfície dentinária (Monteiro et al., 2013). As soluções foram aplicadas passivamente por 60 segundos e o excesso removido com papel absorvente, mantendo-se sempre o tecido úmido. Em seguida, o sistema adesivo (Clearfil SE Bond, Kuraray Noritake Dental Inc, Japão) foi aplicado conforme recomendações do fabricante.

A restauração de resina composta foi realizada pela técnica incremental na superfície da dentina com incrementos de 1 mm cada com a resina Filtek™ Z350 XT (3M Oral Care, Sumaré, SP, Brasil), polimerizados por 40 segundos até obter 4mm de altura com unidade fotopolimerizadora em sua potência padrão (Standard Power) (1000 mW/cm², Valo Ultradent Products, Salt Lake City, UT, EUA).

Após 24 horas de armazenamento em água, os dentes restaurados foram cortados longitudinalmente em uma máquina de corte (Isomet, Buehler) em baixa velocidade sob refrigeração com água, a fim de obter “palitos” de 0.8 mm², medidos com um paquímetro digital (Digimatic Caliper, Mitutoyo, Tokyo, Japão) para calcular a resistência de união em MPa. Todos os palitos que apresentaram falhas pré-testes durante a confecção das amostras foram registrados para cada dente. Cada bloco de dente-resina composta forneceu, aproximadamente, 20-25 “palitos”.

Teste de resistência de união (µTBS)

Antes de serem submetidos ao ensaio mecânico de microtração, a área de secção transversal de cada palito foi aferida com auxílio de paquímetro digital (Digimatic Caliper, Mitutoyo, Tokyo, Japão) e as mesmas individualmente identificadas.

Cada palito foi fixado em garras de Geraldeli própria para teste de microtração com auxílio do adesivo instantâneo (cianoacrilato em gel) e subsequentemente submetido ao teste de microtração em Máquina de ensaio Universal (Kratos Dinamometros, Cotia, SP, Brasil) com velocidade de 0,5 mm/min, até a ruptura. Os valores de µTBS (MPa) foram calculados dividindo-se a carga máxima de tração até a ruptura pela respectiva área de seção, transversal de cada palito (Cardenas et al., 2021; Siqueira et al., 2018; Reis et al., 2010).

As superfícies dos corpos-de-prova fraturados foram examinadas visualmente em lupa estereoscópica, com aumento de 30x para classificar o tipo de fratura ocorrido. O modo de falha de cada palito foi classificado em: [A/M] falha adesiva ou mista dentro de qualquer um dos substratos; e falha coesiva [C], falha unicamente na dentina ou na resina composta (Cardenas et al., 2021; Siqueira et al., 2018; Reis et al., 2010).

Análise estatística

No presente estudo, a unidade experimental foi o dente. Portanto, os valores médios de µTBS de todos os palitos do mesmo dente foram calculados para fins estatísticos. Amostras com falhas prematuras (FP) foram incluídas na média do dente para análise estatística. O valor atribuído as FP's foi arbitrário e correspondeu a aproximadamente à metade da força de união mínima mensurável neste estudo, que foi de 4.0 MPa. Foram utilizados 5 dentes por grupo, os valores das médias de µTBS

foram analisados por ANOVA de 1 fator (tratamento) e pós teste de Tukey, com $\alpha = 5\%$.

3. Resultados

Resistência de união à microtração (μ TBS)

Aproximadamente 20-25 palitos foram obtidos por dente, incluído falhas prematuras (PF). A falha mais comum observada foi adesiva/mista para todos os grupos experimentais que correspondeu a 84% (Tabela 2).

Tabela 2. Média e desvio padrão da Resistencia de união à microtração dos diferentes grupos

| CONTROLE | TRATAMENTO* | | |
|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | CLOREXIDINA | EGCG 2% | EGCG 6% |
| 34,68 \pm 4,8 B | 36,16 \pm 3,1 B | 40,75 \pm 4,0 AB | 45,72 \pm 2,8 A |

(*) Diferentes letras são médias diferentes estatisticamente (ANOVA – 1 fator; pós teste de Tukey, $p < 0.05$). Fonte: Autoria própria.

Em relação aos valores de resistência de união, a interação tratamento foi significativa ($p < 0.05$). Maiores valores de μ TBS, estatisticamente significativos, foram observados para o grupo tratado com EGCG 6% (Tabela 3), quando comparado aos grupos Controle e Clorexidina. Não houve diferença significativa em relação aos tratamentos EGCG 2% e EGCG 6%. Os menores valores de μ TBS foram observados para os grupos Controle e Clorexidina que foram semelhantes estatisticamente entre si.

Tabela 3. Porcentagem (%) dos espécimes de acordo com o modo de fratura para cada grupo experimental

| | CONTROLE | TRATAMENTO* | | |
|-----|----------|-------------|---------|---------|
| | | CLOREXIDINA | EGCG 2% | EGCG 6% |
| A/M | 81 (77) | 90 (88.5) | 90 (86) | 90 (86) |
| CR | 18 (17) | 10 (9) | 15 (14) | 15 (14) |
| CD | 6 (6) | 5 (2.5) | 0 (0) | 0 (0) |

(*) Abreviaturas: A/M- falha adesiva/mista; CR- falha coesiva em resina; CD- falha coesiva em dentina. Fonte: Autoria própria.

4. Discussão

A dentina é o substrato mais complexo para realização de procedimentos adesivos na área da Odontologia restauradora. Quando esse procedimento restaurador é realizado na dentina afetada por cárie, um substrato ainda mais desorganizado quando comparado ao sadio, os valores de resistência de união são ainda mais inferiores. Com o intuito de melhorar a adesão imediata e a longo prazo, inibidores de MMP ou substâncias reticuladoras de colágeno como a EGCG têm sido investigadas sob a hipótese de aumentarem os valores de resistência adesiva e de impedirem as degradações enzimática e hidrolítica que sofre a interface com o seu envelhecimento e frente aos seus desafios clínicos diários na cavidade bucal (Ekambaram *et al.*, 2015; Fialho *et al.*, 2019; Monteiro *et al.*, 2016).

De acordo com os resultados do presente estudo, o tratamento do substrato dentinário com EGCG 2% e 6% apresentou os maiores valores de resistência de união, especialmente quando utilizado em alta concentração (6%), quando comparado com o grupo controle e o clorexidina, levando-nos a rejeitar a primeira hipótese nula.

Os valores encontrados no grupo controle-positivo (clorexidina) após 24h mostraram que apesar de não diferirem daqueles expostos pelo grupo controle-negativo (sem tratamento) estatisticamente, não podem ser desconsiderados uma vez que se apresentam com relevância clínica. Monteiro *et al.* (2016) ratificaram que a clorexidina, quando avaliada após 24h e 6 meses, demonstrou ausência de diferença estatística entre esses valores, o que corrobora com a ideia de que apesar de não melhorar os valores de resistência de união imediato, a clorexidina não prejudica a interface adesiva e consegue manter os valores de resistência de união semelhantes ao longo do tempo (Monteiro *et al.*, 2013; Siqueira *et al.*, 2017).

Já o tratamento EGCG a 2% e a 6% aumentaram os valores de resistência de união e Gerhardt *et al.* (2016) relacionaram esse fato às habilidades da EGCG em: funcionar com a proantocianidina que é capaz de formar complexos insolúveis com proteínas como o colágeno presente no substrato dental, ter efeito biomodificar (capaz de melhorar as propriedades das fibras colágenas), promover interações hidrofóbicas e ligações com o hidrogênio de colagenases (enzimas endógenas responsáveis pela degradação enzimática que ocorre ao longo do tempo na interface adesiva); promover uma ação oxidante, o que previne o envelhecimento da interface, na medida em que impede a liberação de radicais livres.

Du *et al.* (2012), levantaram a hipótese de que concentrações mais altas de EGCG (como aquelas de 0,2% ou 0,5% utilizadas no seu estudo) poderiam interferir na formação de cadeias poliméricas lineares e que, portanto, poderiam comprometer a polimerização do adesivo dentinário e, conseqüentemente prejudicar os valores da resistência de união. Essa ideia não foi corroborada com os resultados deste estudo, uma vez que os valores encontrados aqui foram clinicamente aceitáveis e quando comparadas as duas concentrações de 2% e 6% apesar de não haver diferença significativa entre os dois grupos os melhores valores foram para EGCG a 6%.

É importante mencionar as possíveis limitações do presente estudo. Os resultados do presente estudo são baseados nos resultados imediatos, sem nenhum método de envelhecimento. Comumente, a termociclagem é um método utilizado para avaliar a durabilidade da união (Yang *et al.*, 2005; Dos Santos *et al.*, 2005; Amaral *et al.*, 2007), e simular as mudanças térmicas que ocorrem na cavidade oral. No entanto, as variações no número de ciclos, a escolha da temperatura, condições de tempo e intervalos entre os banhos dificultam a comparação dos resultados (Amaral *et al.*, 2007). Por tanto, ensaios clínicos com grandes períodos de avaliação devem ser realizados para avaliar o real efeito das duas concentrações de EGCG (2% e 6%) sobre a interface adesiva produzida por um adesivo autocondicionante.

Assim, os resultados do presente estudo sugerem que a aplicação de EGCG a 2% ou 6% não interfere na resistência de união de um adesivo autocondicionante de dois passos e pode ser uma alternativa para aumentar a resistência de união.

5. Conclusão

A aplicação da EGCG nas concentrações de 2% e 6%, como parte do protocolo restaurador adesivo, mostrou-se eficaz para aumentar a resistência de união de um adesivo autocondicionante.

Referências

- Ahmed M. H., Yao C., Van Landuyt K., Peumans M., & Van Meerbeek B. (2020). Extra Bonding Layer Compensates Universal Adhesive's Thin Film Thickness. *J Adhes Dent.* 22(5):483-501.
- Ahmed M.H., De Munck J., Van Landuyt K., Peumans M., Yoshihara K., & Van Meerbeek B. (2019). Do Universal Adhesives Benefit from an Extra Bonding Layer?. *J Adhes Dent.* 21(2):117-132.
- Amaral F. L., Colucci V., Palma-Dibb R. G., & Corona S. A. (2007). Assessment of in vitro methods used to promote adhesive interface degradation: a critical review. *J Esthet Restor Dent.* 19(6):340-53.
- Costa, C., Albuquerque, N., Mendonça, J. S., Loguercio, A. D., Saboia, V., & Santiago, S. L. (2020). Catechin-based Dentin Pretreatment and the Clinical Performance of a Universal Adhesive: A Two-year Randomized Clinical Trial. *Operative dentistry*, 45(5), 473–483.
- Cardenas A. F. M., Araujo L. C. R., Szesz A. L., de Jesus Tavarez R. R., Siqueira F. S. F., Reis A., & Loguercio A. D. (2021). Influence of Application of Dimethyl Sulfoxide on the Bonding Properties to Eroded Dentin. *J Adhes Dent.* Dec 3;23(6):589-598.

- Dos Santos P.A., Garcia P.P., & Palma-Dibb R.G. (2005). Shear bond strength of adhesive systems to enamel and dentin. Thermocycling influence. *J Mater Sci Mater Med.* ;16(8):727-32.
- Ekambaram, M., Yiu, C. K. Y., & Matinlinna, J. P. (2015). Bonding of resin adhesives to caries-affected dentin—a systematic review. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 61, 23-34.
- Fialho, M. P. N., Hass, V., Nogueira, R. P., França, F. M. G., Turssi, C. P., Basting, R. T., & Amaral, F. L. B. (2019). Effect of epigallocatechin-3-gallate solutions on bond durability at the adhesive interface in caries-affected dentin. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 91, 398-405.
- Gerhardt, K. M. F., Oliveira, C. A. R., França, F. M. G., Basting, R. T., Turssi, C. P., & Amaral, F. L. B. (2016). Effect of epigallocatechin gallate, green tea extract and chlorhexidine application on long-term bond strength of self-etch adhesive to dentin. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 71, 23-27.
- Macedo, F. A. A., Souza, N. O., Lemos, M. V. S., De-Paula, D. M., Santiago, S. L., & Feitosa, V. P. (2019). Dentin bonding and physicochemical properties of adhesives incorporated with epigallocatechin-3-gallate. *Odontology*, 107(1), 23-28.
- Marchesi G., Frassetto A., Visintini E., Diolosà M., Turco G., Salgarello S., Di Lenarda R., Cadenaro M., & Breschi L. (2013). Influence of ageing on self-etch adhesives: one-step vs. two-step systems. *Eur J Oral Sci.* Feb;121(1):43-9.
- Monteiro, T. M. A., Basting, R. T., Turssi, C. P., França, F. M. G., & Amaral, F. L. B. (2013). Influence of natural and synthetic metalloproteinase inhibitors on bonding durability of an etch-and-rinse adhesive to dentin. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 47, 83-88.
- Nakajima, M., Kunawarote, S., Prasansuttipom, T., & Tagami, J. (2011). Bonding to caries-affected dentin. *Japanese Dental Science Review*, 47(2), 102-114.
- Oliveira, N. A., Diniz, L. S. M., da Rocha Svizero, N., D'Alpino, P. H. P., & Pegoraro, C. A. C. C. (2010). Sistemas adesivos: Conceitos atuais e aplicações clínicas. *Revista Dentística on line-ano*, 9(19).
- Osorio, R., Yamauti, M., Osorio, E., Ruiz-Requena, M. E., Pashley, D., Tay, F., & Toledano, M. (2011). Effect of dentin etching and chlorhexidine application on metalloproteinase-mediated collagen degradation. *European journal of oral sciences*, 119(1), 79-85.
- Santos, V. E., Lyra, J. D. G., Silva, M. B., Heimer, M., & Rosenblatt, A. (2016). Mecanismo de ação da clorexidina sobre as enzimas metaloproteinasas e sua repercussão clínica: um estudo de revisão. *Revista da Faculdade de Odontologia-UPF*, 21(3).
- Silva, E. T. C., Vasconcelos, M. G., & Vasconcelos, R. G. (2019). Influência de inibidores de metaloproteinasas na degradação da camada híbrida. *Revista Da Faculdade De Odontologia-UPF*, 24(1), 162-169.
- Siqueira F.S.F., Cardenas A.M., Ocampo J.B., Hass V., Bandeca M.C., Gomes J.C., Reis A., & Loguercio A.D. (2018). Bonding Performance of Universal Adhesives to Eroded Dentin. *J Adhes Dent.* 20(2):121-132.
- Walter R., Swift E.J., Jr, Nagaoka H., Chung Y., Bartholomew W., Braswell K.M., & Pereira P.N. (2012). Two-year bond strengths of "all-in-one" adhesives to dentine. *J Dent.* 40(7):549-55.
- Yang B, Adelung R, Ludwig K, Bossmann K, Pashley DH, & Kern M. (2005). Effect of structural change of collagen fibrils on the durability of dentin bonding. *Biomaterials.* 26(24):5021-31.
- Yang, H., Guo, J., Deng, D., Chen, Z., & Huang, C. (2016). Effect of adjunctive application of epigallocatechin-3-gallate and ethanol-wet bonding on adhesive-dentin bonds. *Journal of Dentistry*, 44, 44-49.
- Yu, J., Zhang, Z., Guo, R., Peng, W., Yang, H., & Huang, C. (2021). Epigallocatechin-3-gallate/nanohydroxyapatite platform delivery approach to adhesive-dentin interface stability. *Materials Science and Engineering: C*, 122, 111918.
- Zhang, Z., Yu, J., Yao, C., Yang, H., & Huang, C. (2020). New perspective to improve dentin-adhesive interface stability by using dimethyl sulfoxide wet-bonding and epigallocatechin-3-gallate. *Dental materials: official publication of the Academy of Dental Materials*, 36(11), 1452-1463.