

## Agentes reticuladores de colágeno: revisão integrativa

### Collagen cross-linking agents: integrative review

### Agentes reticulantes del colágeno: revisión integradora

Recebido: 03/10/2022 | Revisado: 15/10/2022 | Aceitado: 17/10/2022 | Publicado: 24/10/2022

#### **Denira Fróes Brahuna Serejo Sousa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9429-8543>

Universidade CEUMA, Brasil

E-mail: [denirafroes@hotmail.com](mailto:denirafroes@hotmail.com)

#### **Andres Felipe Millan Cardenas**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7434-3327>

Universidade CEUMA, Brasil

E-mail: [andresfelipemillancardenas@hotmail.com](mailto:andresfelipemillancardenas@hotmail.com)

#### **Meire Coelho Ferreira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7116-1547>

Universidade CEUMA, Brasil

E-mail: [meirecoelho@hotmail.com](mailto:meirecoelho@hotmail.com)

#### **Ana Carla Santos Silva Maciel**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6412-8554>

Centro Universitário Tocantinense Presidente Antônio Carlos, Brasil

E-mail: [contatocarlamaciel@gmail.com](mailto:contatocarlamaciel@gmail.com)

#### **Thamylla Martírios Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0755-6509>

Centro Universitário Tocantinense Presidente Antônio Carlos, Brasil

E-mail: [thamyllasantos1998@gmail.com](mailto:thamyllasantos1998@gmail.com)

#### **Marília Matos Nogueira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4545-5183>

Centro Universitário Tocantinense Presidente Antônio Carlos, Brasil

E-mail: [drmarilianogueira@outlook.com](mailto:drmarilianogueira@outlook.com)

### **Resumo**

Avaliar através de estudos a eficácia dos agentes reticuladores no fortalecimento da camada híbrida em dentina cariada quando associados aos adesivos e também comparando-os quanto ao uso exclusivo de adesivos. Trata-se de uma revisão integrativa a partir da busca por publicações científicas indexadas nas bases de dados eletrônicas realizadas no MEDLINE via PUBMED, usando as seguintes MeSH terms: dentin; dental caries; proanthocyanidins, riboflavina, ao final das bucas, 30 publicações atenderam aos critérios e foram selecionadas para compor o estudo. Diante dos achados dos estudos selecionados, a formação, estabilização e integridade da camada híbrida é de suma importância para a eficácia da adesão. A biodegradação enzimática ainda é reportada como razão da diminuição da adesão pois com o passar do tempo as ligações se degradam afetando diretamente a longevidade dente-restauração, ocasionando assim falhas e até mesmo rupturas. No entanto, vários estudos têm trazidos procedimentos que visam diminuir essa biodegradação, melhorando então a adesividade dentinária e aumentando o seu tempo de vida. Este estudo permitiu refletir que alguns agentes reticuladores vem sendo testados para tais fins, onde podemos citar os agentes sintéticos, naturais e naturais com ação combinada com luz ultravioleta, tais agentes afetam diretamente as ligações covalentes inter e intramoleculares resultando assim em uma maior resistência à degradação pelas proteases endógenas.

**Palavras-chave:** Agentes reticuladores; Dentina cariada; *In vitro*; Proantocianidinas; Riboflavinas.

### **Abstract**

To evaluate the efficacy of cross-linking agents in strengthening the hybrid layer in decayed dentin when associated with adhesives, and also to compare them with respect to the exclusive use of adhesives. This is an integrative review based on the search for scientific publications indexed in electronic databases conducted in MEDLINE via PUBMED, using the following MeSH terms: dentin; dental caries; proanthocyanidins, riboflavin. At the end of the search, 30 publications met the criteria and were selected for the study. In view of the findings of the selected studies, the formation, stabilization and integrity of the hydride layer is of paramount importance for the effectiveness of adhesion. Enzymatic biodegradation is still reported as a reason for decreased adhesion because, over time, bonds degrade, directly affecting tooth-restoration longevity, thus causing failures and even breakage. However, several studies have brought procedures that aim to reduce this biodegradation, thus improving dentin adhesion and increasing its lifetime. This study allowed us to reflect that some cross-linking agents have been tested for such purposes, where we can mention synthetic, natural, and natural agents with combined action with ultraviolet light,

such agents directly affect the inter- and intramolecular covalent bonds, thus resulting in greater resistance to degradation by endogenous proteases.

**Keywords:** Cross-linking agents; Dentin caries; *In vitro*; Proanthocyanidins; Riboflavins.

### Resumen

Evaluar la eficacia de los agentes reticulantes en el fortalecimiento de la capa híbrida en la dentina cariada cuando se asocian con adhesivos y también compararlos con el uso exclusivo de adhesivos. Se trata de una revisión integradora de la búsqueda de publicaciones científicas indexadas en bases de datos electrónicas realizada en MEDLINE a través de PUBMED, utilizando los siguientes términos MeSH: dentin; dental caries; proanthocyanidins, riboflavin. Al final de la búsqueda, 30 publicaciones cumplieron los criterios y fueron seleccionadas para el estudio. A la vista de los resultados de los estudios seleccionados, la formación, estabilización e integridad de la capa de hidruro es de suma importancia para la eficacia de la adhesión. La biodegradación enzimática sigue siendo señalada como una razón para la disminución de la adhesión, ya que, con el tiempo, las uniones se degradan, afectando directamente a la longevidad del diente-restauración, provocando así fallos e incluso roturas. Sin embargo, varios estudios han presentado procedimientos que pretenden reducir esta biodegradación, mejorando así la adhesión de la dentina y aumentando su vida útil. Este estudio permitió reflejar que algunos agentes reticulantes han sido probados para tales fines, donde podemos mencionar agentes sintéticos, naturales y naturales con acción combinada con luz ultravioleta, tales agentes afectan directamente los enlaces covalentes inter e intramoleculares, resultando así en una mayor resistencia a la degradación por proteasas endógenas.

**Palabras clave:** Agentes reticuladores, Dentina cariada; *In vitro*; Proantocianidinas; Riboflavinas.

## 1. Introdução

Os sistemas adesivos necessitam da formação de uma camada híbrida para se ligar à dentina. A camada híbrida resulta da impregnação de um monômero à superfície dentinária desmineralizada, formando uma camada ácido-resistente de dentina reforçada por resina (Nakabayashi, et al., 1982). A camada orgânica de colágeno tipo I contida na dentina é essencial para a ancoragem da resina (Aydin, et al., 2019). Desta forma, a eficácia da adesão depende, primordialmente, da estabilidade e da integridade estrutural das fibrilas de colágeno e das cadeias poliméricas dentro da camada híbrida (Bedran-Russo, et al., 2019).

Com o passar do tempo, as ligações de resina-dentina se degradam e alguns fatores são responsáveis por esta degradação, como a natureza iônica e hidrofílica dos adesivos dentais que criam camadas híbridas instáveis e permeáveis; e a ação hidrolítica das proteases endógenas. As metaloproteinases da matriz como as catepsinas de cisteína são endopeptidases relacionadas com a deteriorização das proteínas da matriz extracelular, o que reduz a vida útil das restaurações (Breschi, et al., 2008; Tjäderhane, et al., 2013).

Mesmo com o avanço dos sistemas adesivos, a biodegradação enzimática da matriz de colágeno tem sido reportada como uma das razões da diminuição da adesão, prejudicando a longevidade da interface dente-restauração. Desta forma, espera-se que procedimentos que aumentem a resistência do colágeno da dentina contra a biodegradação melhorem a adesão dentinária (Gré, et al., 2018).

A utilização de inibidores de proteases endógenas como a clorexidina foi capaz de preservar a interface de união após longo tempo (Carrilho, et al., 2007). Outras substâncias, como a galartina e EDTA têm mostrado resultados positivos com relação a maior durabilidade da interface de união (Carrilho, et al., 2012). Porém, esses agentes são dissolvidos em água e podem não estabelecer ligações químicas com a dentina (Ricci, et al., 2010). Dessa forma, uma outra estratégia para reduzir a degradação do colágeno dentro da camada híbrida é estabelecer ligações químicas entre ele e agentes reticuladores antes da aplicação do adesivo (Aydin, et al., 2019).

Com o aumento das ligações covalentes inter e intramoleculares das fibrilas colágenas, há o reforço das mesmas, o que resulta em uma maior resistência à degradação pelas proteases endógenas (Aydin, et al., 2019)(Vidal, et al., 2014).

Vários agentes reticuladores têm sido estudados com esse fim, tais como glutaraldeído e carbomidina (agentes sintéticos), proantocianidinas (natural), riboflavina-vitamina B2 (natural com ação combinada com luz ultravioleta). A

reticulação das fibrilas serve para inativar o sítio catalítico das proteases, o que diminui a degradação enzimática por collagenases (Liu, et al., 2011).

A literatura não é tão consistente quanto aos benefícios dos agentes reticuladores de colágeno em relação ao aumento da durabilidade de união dos adesivos à dentina, principalmente quando estes são aplicados em situações clínicas reais (Gré, et al., 2018). Desta forma, o objetivo do estudo foi investigar os efeitos dos agentes reticuladores de colágeno em dentina cariada, por meio de uma revisão integrativa de estudos *in vitro*.

## **2. Metodologia**

### **Material e métodos**

Esta pesquisa foi realizada de natureza básica, abordada de forma qualitativa e de objetivo descritivo (Estrela, 2018). O protocolo de revisão integrativa foi composto pelas seguintes fases: (1) definição da pergunta por meio da questão PICOT, (2) busca dos estudos, (3) identificação e seleção dos estudos e, (4) síntese dos achados.

### **Critérios de elegibilidade**

Foram incluídos nesta revisão integrativa estudos que estivessem de acordo com a questão PICOT: P (problema): dentina cariada; I (intervenção): agentes reticuladores de colágeno (proantocianidina e riboflavina) aplicados previamente aos sistemas adesivos ou adicionados aos mesmos para aplicação; C (comparação): uso exclusivo de sistemas adesivos; T (tipo de estudo): *in vitro*. Os critérios de exclusão foram estudos avaliando outros agentes reticuladores, estudos com tratamento em dentina hígida e estudos com amostras de dentes não humanos. Desta forma, a pergunta de pesquisa foi: Os agentes reticuladores de colágeno associados aos adesivos são eficazes no fortalecimento da camada híbrida em dentina cariada quando comparado ao uso exclusivo de adesivos?

### **Busca da evidência**

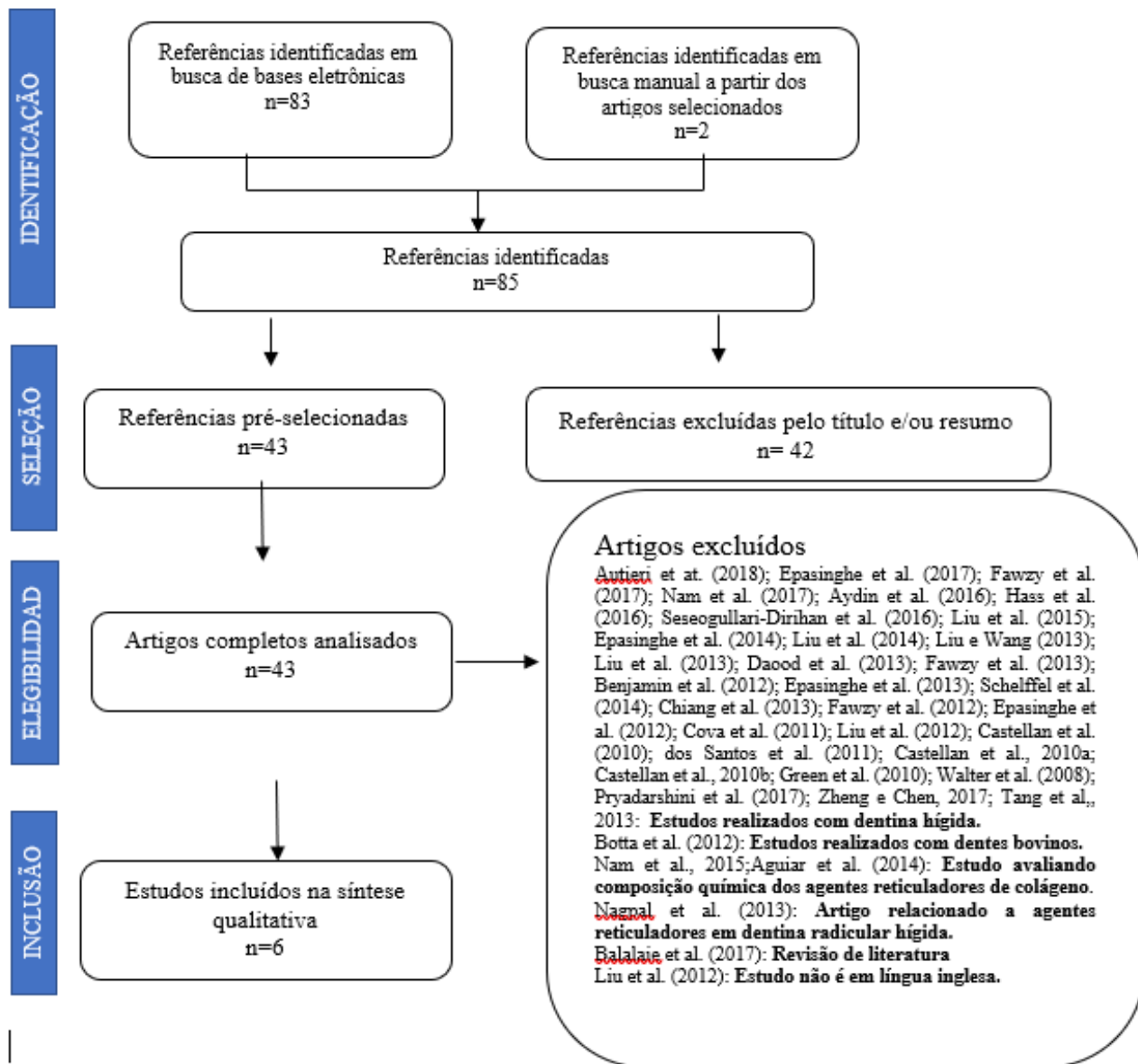
As buscas eletrônicas foram realizadas até Julho de 2022, no MEDLINE via PUBMED, usando as seguintes MeSH terms: Dentin, dental caries; proanthocyanidins; riboflavin;, e seus respectivos Entry Terms: Dentins; dentine; dentines; dental decay; caries, dental; decay, dental; carious dentin; carious dentins; dentin, carious; dentins, carious; condensed tannin; condensed tannin; tannins, condensed; anthocyanidin polymers; polymers, anthocyanidin; tannin, condensed; procyanidins;“Vitamin B2; vitamin B2. Considerando que nenhum estudo foi encontrado, realizou-se uma nova busca por meio exclusivamente dos MeSH terms: dentin; dental caries; proanthocyanidins, riboflavin.

### **Identificação e seleção dos estudos**

Os estudos identificados por meio da avaliação dos títulos e resumos foram avaliados por duas pesquisadoras de forma independente (DFBSS, MN). Discordâncias entre os avaliadores foram resolvidas por consenso ou mediante avaliação por um padrão-ouro (MCF).

O fluxograma (Figura 1) traz o número de estudos identificados, selecionados, elegíveis e incluídos na revisão

Figura 1. Fluxograma mostrando o número de estudos identificados, selecionados, elegíveis e incluídos na revisão.



Fonte: Autoria própria (2022).

### 3. Resultados

Diante dos objetivos propostos, um total de seis artigos foram incluídos na revisão integrativa, onde foi possível avaliar eficácia dos agentes reticuladores no fortalecimento da camada híbrida em dentina cariada quando associados aos adesivos e também comparando-os quanto ao uso exclusivo de adesivos.

A Tabela 1 traz os artigos incluídos na revisão e respectivos objetivos, tamanho da amostra, grupos de tratamento e principais resultados.

**Tabela 1.** Estudos in vitro que avaliaram o efeito dos agentes reticuladores de colágeno em dentina cariada.

Estudo País	Hipóteses/ Objetivos	Tamanho da amostra	Grupos de tratamento	Principais resultados
XIE <i>et al.</i> (2008) EUA	O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do extrato de semente de uva (ESU) na remineralização da cárie radicular artificial.	25 terceiros molares extraídos	Os fragmentos de raiz desmineralizados foram divididos aleatoriamente em 3 grupos (n = 15) com base em tratamentos: -6,5% para ESU; -Solução de fluoreto de 1000 ppm como NaF (Fisher Chemical, EUA); -controle (água deionizada).	- Houve um aumento significativo de microdureza das lesões cariosas, quando as comparando-as ao grupo controle. - Verificou-se a formação de uma precipitação mineral mais espessa na camada superficial das lesões tratadas com ESU, quando comparadas aos demais grupos. -O extrato da semente de uva afeta positivamente o processo de desmineralização e remineralização das lesões de cárie radicular artificial, diferente dos demais fluoretos, demonstrando assim, que o extrato da semente da uva pode ser um promissor agente natural para ser utilizado na terapia não invasiva de cárie radicular
MACEDO <i>et al.</i> (2009) EUA	A hipótese testada foi que a indução de reticulação no colágeno dentinário melhora a estabilidade do mesmo na dentina e a força de união.  Investigar os efeitos dos agentes reticuladores, extrato de semente de uva e glutaraldeído, na força de união e estabilidade de dentina cariada e sadia.	48 molares humanos recém-extraídos com cárie oclusal não cavitada  * Preparo de amostras de substrato de dentina cariada e hígida	Previamente aos tratamentos, a dentina foi condicionada com ácido fosfórico a 37% por 15 segundos.  Grupos controles: - Adper Single Bond Plus (3M/ESPE) - One Step Plus Adhesive System (Bisco)  Grupos experimentais: - Glutaraldeído a 5% por 1 hora. - Extrato de semente de uva: a 6,5% por 1 hora.	- Ambos os sistemas adesivos responderam positivamente ao tratamento de reticulação, resultando em aumento significativo das forças adesivas da dentina. - O glutaraldeído e o extrato de semente de uva aumentaram a resistência de união de ambos substratos de dentina. - Fotomicrografias de amostras do grupo controle mostraram falhas coesivas principalmente na parte inferior da camada híbrida. Falhas coesivas (principalmente na resina e no topo da camada híbrida) também foram observadas em espécimes dos grupos tratados com glutaraldeído e extrato de semente de uva. - As amostras de dentina cariada ou sadia tiveram respostas semelhantes em relação ao tipo de falha. - As amostras tratadas com extrato de semente de uva mostraram menor digestibilidade do colágeno, quando comparada às tratadas com glutaraldeído e às amostras do grupo controle para dentina sadia e cariada.
FANG <i>et al.</i> (2012) China	Avaliar se o pré-tratamento transitório com proantocianidinas pode melhorar a união dentina-resina e se o tipo de solvente, concentração de proantocianidina (PA) e duração da exposição	168 molares humanos extraídos	Previamente aos tratamentos, a dentina foi condicionada com ácido fosfórico a 37% por 15 segundos.  1. Adper Single Bond 2; Grupo controle negativo (não tratado);	O tratamento de reticulação de colágeno por pré-condicionadores à base de proantocianidinas foi dependente da concentração e do tempo de aplicação – quanto maior a concentração e tempo de aplicação, maior a resistência de união à dentina.

	<p>influencia na união dentina-resina. A hipótese nula testada foi de que o uso transitório de proantocianidina não afetaria significativamente a união resina-dentina quando comparado a um grupo não tratado, independentemente do tipo de solvente, concentração de proantocianidina e duração da exposição.</p>		<p>Grupos controles solventes (água destilada e etanol) Grupo controle positivo: Glutaraldeído 5% Grupos experimentais: Proanthocyanidina com água destilada: (PA 0%, PA 5%, PA 10% e PA 15%) / 30s, 60s e 120s); Grupos experimentais: Proanthocyanidina com etanol (PA 0%, PA 5%, PA10%, PA15% / 30s, 60s e 120s).</p> <p>2. Prime &amp; Bond NT: Grupo controle negativo (não tratado); Grupos controles solventes (água destilada e etanol) Grupo controle positivo: Glutaraldeído 5% Grupos experimentais: Proanthocyanidina com água destilada: (PA 0%, PA 5%, PA 10% e PA 15%) / 30s, 60s e 120s); Grupos experimentais: Proanthocyanidina com etanol (PA 0%, PA 5%, PA10%, PA15% /30s, 60s e 120s).</p>	<p>- O pré-condicionamento de PA foi mais eficaz na resistência da união dos adesivos testados à base de água/etanol do que dos adesivos à base de água/acetona. - Fratura mista foi o modo de falha mais frequente na parte superior da camada híbrida (amostras tratadas com PA), enquanto na parte inferior da camada híbrida (amostras controles não tratadas).</p>
SRINIVASULU et al. (2012) Índia	<p>Avaliar a resistência de união ao cisalhamento de resina composta à dentina profunda, usando um adesivo <i>total etching</i> após o tratamento com dois agentes reticuladores de colágeno em intervalos de tempo variáveis.</p>	<p>30 incisivos centrais superiores humanos extraídos</p> <p>* De cada dente foram obtidas 2 amostras</p>	<p>Previamente aos tratamentos, a dentina foi condicionada com ácido ortofosfórico a 36% por 15 segundos, lavada com água por 15 segundos.</p> <p>Grupo I (n = 12): sem tratamento prévio da superfície da dentina (controle)</p> <p>Grupo II (n = 24): superfície da dentina pré-tratada com ascorbato de sódio a 10% Subgrupo IIA (n = 12) - com tempo de pré-tratamento de 5 minutos Subgrupo IIB (n = 12) - com tempo de pré-tratamento 10 minutos</p> <p>Grupo III (n = 24): superfície da dentina pré-tratada com 6,5% de proantocianidina Subgrupo IIIA (n = 12) - com pré-tratamento de 5 minutos Subgrupo IIIB (n = 12) - com pré-tratamento de 10 minutos</p> <p>Adesivo utilizado após os tratamentos dos grupos: Prime e Bond NT</p>	<p>-Resistência adesiva foi significativamente maior à dentina profunda de dentes tratados com ascorbato de sódio a 10% (grupo II) e proantocianidina a 6,5% (grupo III) em comparação ao grupo controle (grupo I). - As amostras tratadas com proantocianidina apresentaram valores de resistência de união ao cisalhamento significativamente maiores do que aqueles tratados com ascorbato de sódio. - Não foi observada diferença significativa entre os tempos de pré-tratamento de 5 e 10 minutos nos grupos II e III.</p>
BEDRAN-RUSSO et al. (2013) EUA	<p>Avaliar em dentes cariados não cavitados as propriedades mecânicas da matriz dentinária, antes e após o efeito das estratégias de biomodificação da dentina sobre três zonas da matriz dentinária: dentina afetada por cárie, dentina aparentemente normal abaixo da zona afetada por cárie e dentina sadia distante de locais cariados.</p> <p>A hipótese nula testada foi que os agentes de reticulação não tiveram efeito sobre o módulo de</p>	<p>15 molares humanos com lesões cáries oclusais não cavitadas</p> <p>* De cada dente foram obtidas 4 amostras</p>	<p>Previamente aos tratamentos, a dentina foi condicionada com ácido fosfórico a 32% por 60 segundos; lavada com água destilada por 3 minutos e tratamento por 10 minutos com os agentes de reticulação:</p> <p>- Solução de glutaraldeído a 5% - Grupo (GD) - Solução de extrato de semente de uva a 6,5% (94% de proantocianidina, MegaGold Natural<sup>1</sup>) (GSE) - 0,3M 1-Etil-3- [3-cloridrato de dimetilaminopropil] carbodiimida / solução de N-hidroxissuccinimida 0,12 M (EDC/NHS)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>A modificação da superfície da dentina desmineralizada por reticuladores de colágeno resultou em aumento dos valores de módulo de elasticidade reduzido (Er).</li> <li>Maior aumento de Er foi observado no tratamento com GSE, com nenhuma diferença entre GD e EDC/NHS.</li> <li>Após o tratamento, não houve diferença significativa entre as zonas de dentina, indicando um mecanismo de reforço para dentina sob a zona cariada afetada.</li> </ul>

	elasticidade reduzido das três zonas de dentina.			
LEME-KRAUS <i>et al.</i> (2017) EUA	<p>Determinar mudanças nas propriedades mecânicas e de biodegradabilidade da matriz dentinária e mecanismos favoráveis de adesão à resina após a aplicação de uma mistura enriquecida de proantocianidina oligomérica, produzida a partir do extrato enriquecido de semente de uva [e-GSE], em matrizes de dentina.</p> <p>Hipóteses do estudo:  1) tratamento com uma mistura enriquecida de proantocianidina oligomérica aumenta o volume e propriedades mecânicas de superfície (escala nanométrica) da matriz dentinária; 2) uma mistura enriquecida de proantocianidina oligomérica media ligações cruzadas de colágeno estáveis e reduz a degradação a longo prazo de matrizes de dentina; e 3) uma mistura enriquecida de proantocianidina oligomérica exibe propriedades bioadesivas potentes, resultando em aumento da resistência de união e vedação da interface resina-dentina.</p>	<p>15 terceiros molares</p> <p>* Para avaliação do volume tecidual: 10 espécimes de dentina</p> <p>* Para avaliação do tecido superficial: 4 amostras foram obtidas de cada dente</p> <p>* Para avaliação por nanoindentação: 4 amostras foram obtidas de cada dente</p> <p>* Para avaliação da interface adesiva e capacidade de vedação: 7 terceiros molares permanentes</p>	<p>→ Avaliação de volume de tecido:  1) Módulo de elasticidade:  - Grupo solução de tratamento: dissolução de e-GSE 6,5% peso por volume (w/v) em 20mM  4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) (HEPES), tampão em pH 7,2 - espécimes imersos em solução por 1 hora  - Grupo controle: espécimes imersos em HEPES</p> <p>2) Solubilização do colágeno por protease endógena: por meio de quantificação de hidroxiprolina no meio de armazenagem dos espécimes que foram avaliados quanto ao módulo de elasticidade.  Avaliação 1h após o tratamento, 3, 6 e 12 meses.</p> <p>→ Avaliação de tecido superficial:  1) Efeito do tempo e concentração:  Camada de matriz de dentina inter e intrafibrilar foram condicionadas com ácido fosfórico a 35% por 1 minuto e testadas para 3 concentrações de e-GSEs:  - 6,5  - 15%  - 30% p/v  Avaliação no <i>baseline</i> (superfície condicionada) e após 1, 15 e 30 minutos de tratamento cumulativo.</p> <p>2) Nanoindentação:  Grupos:  - Controle: 1-min de tratamento com HEPES  - e-GSE: 30% w/v</p> <p>3) Interface adesiva e capacidade de vedação:  A superfície da dentina foi condicionada com solução de ácido glicólico a 35% (pH 1,5) por 15 segundos; enxágue e tratamento com:  - Experimental: 1 min com 30% p / v e-GSE em HEPES  - Controle: HEPES</p> <p>Enxágue e 2 camadas dos respectivos componentes experimentais H0, H6 e H18 adesivos foram aplicados (sem HEMA, 6% HEMA e 18% HEMA; o excesso de solvente evaporado; aplicação do adesivo e resina; espécimes imersos em fluido corporal simulado a 37° C por 24 horas; secção dos espécimes e avaliação da resistência de união da interface e a capacidade de vedação.</p>	<p>- Avaliação do módulo de elasticidade:  O grupo tratado com e-GSE exibiu módulo de elasticidade significativamente maior do que o grupo imerso em HEPES e para todos os tempos avaliados.</p> <p>- Avaliação da solubilização do colágeno:  A matriz de dentina modificada por e-GSE exibiu uma solubilização baixa de colágeno e manteve as propriedades elásticas em massa ao longo de 12 meses.</p> <p>- Avaliação nanomecânica:  Após 1 minuto da aplicação do e-GSE, as propriedades nanomecânicas da matriz de dentina aumentaram significativamente para todas as concentrações testadas.</p> <p>- Avaliação da interface adesiva e a capacidade de vedação:  Biointerfaces dentina-metacrilato com adesão robusta e estável foram criadas nas superfícies de dentina tratadas com e-GSE, levando a uma diminuição drástica da permeabilidade interfacial.</p> <p>As misturas padronizadas de proantocianidina fornecem um novo mecanismo de adesão aos tecidos ricos em colágeno tipo I que não depende de monômeros hidrofílicos.</p>

Fonte: Autoria própria (2022)

#### 4. Discussão

Sabe-se que a camada híbrida é responsável por sustentar o material resinoso, sendo resultado da interrelação de um polímero proveniente do sistema adesivo com o colágeno dentinário, onde as fibrilas colágenas são encapsuladas pelos monômeros formando um microembricamento. A manutenção e estabilidade das fibrilas colágenas são de suma importância para que esta união seja duradoura e eficaz (Nakabayashi, et al., 1982) (Sousa, et al., 2016).

Com a evolução dos sistemas adesivos, houve uma melhora na união dos materiais restauradores não somente ao esmalte, mas também à dentina, no entanto, a adesão à dentina é bem mais difícil e menos previsível do que ao esmalte, uma vez que o tecido dentinário possui maior percentual de água e material orgânico, principalmente de colágeno tipo I (Sousa, et al., 2016)(Vargas et al., 1997)(Malacarne, et al., 2006). Além disso, a infiltração incompleta do monômero resinoso na dentina desmineralizada pode ocorrer, resultando em uma zona deficiente de recobrimento das fibrilas de colágeno por resina no fundo da camada híbrida. Com isso, a degradação da resina leva a uma maior exposição do colágeno. As fibrilas de colágeno expostas dentro da camada híbrida são mais suscetíveis à degradação enzimática, considerada como uma das possíveis razões para o comprometimento da interface dentina-restauração (Hashimoto, et al., 2003).

Os fatores citados são capazes de comprometer mais ainda o substrato dentinário modificado por lesão cáries. Com o comprometimento por cárie, a dentina apresenta modificações morfológicas e histológicas devido ao processo de desmineralização, assim, os minerais de fosfato e carbonato de cálcio na dentina afetada são reduzidos, o que interfere no processo de penetração dos monômeros resinosos, diminuindo ainda mais a força de união à dentina (Wang, et al., 2006).

Outros fatores relacionados ao hospedeiro interferem na interface resina-dentina. Dentre estes fatores, estão as tensões oclusais, hábitos parafuncionais, enzimas, água, variação de temperatura e microorganismos derivados do biofilme dental, que levam a falhas marginais e, conseqüentemente, contribuindo para o enfraquecimento da adesão, pois a camada híbrida é suscetível à degradação ao longo do tempo (Breschi, et al., 2008).

O uso de agentes reticuladores de colágeno extrínsecos (ARCE) podem induzir a formação adicional de ligações cruzadas moleculares entre as fibrilas colágenas (Sung, et al., 1999) (Han, et al., 2003). Assim, demonstrou-se que agentes reticuladores de colágeno podem aumentar a resistência à tração final e o módulo de elasticidade da dentina desmineralizada (Bedran-Russo, et al., 2008)(Bedran-Russo, et al., 2007).

Dentre os agentes reticuladores de colágeno que vêm sendo estudados, está a riboflavina, que quando exposta à luz ultravioleta (UVA) resulta na produção de radicais livres a partir dos grupos funcionais hidroxila da riboflavina, que se combinam com os aminoácidos histidina, prolina e/ou lisina do colágeno, e resulta na formação de novas ligações covalentes e forte reticulação intra e intermolecular no colágeno (Cova, et al., 2011) (Chiang, et al., 2013).

As proantocianidinas (PA) são um grupo de produtos naturais polifenólicos de subunidades flavan-3-ol, amplamente disponíveis em frutas, nozes e sementes. Sua importância está em sua utilização como suplemento e como agentes antioxidantes, antimicrobianos, anti-inflamatórios e inibidores de algumas enzimas (Han, et al., 2003)(Ku, et al., 2007). Recentemente, a PA originária do extrato de semente de uva foi investigada em vários estudos como um potencial agente reticulador de colágeno capaz de melhorar as propriedades mecânicas e químicas de dentina desmineralizada e aumentar a resistência à degradação enzimática. A PA é biocompatível e seu mecanismo de ação se dá por meio da estabilização do colágeno da matriz dentinária, resultando na melhoria do módulo de elasticidade da dentina e agindo indiretamente na força de união da interface dente/restauração (Bedran-Russo, et al., 2008)(Bedran-Russo, et al., 2007)(Green, et al., 2010).

Segundo os estudos de Macedo, et al., 2009, Fang, et al., 2012, Srinivasulu, et al., 2012, houve uma melhora significativa da resistência de união na dentina desmineralizada após sua reticulação (Fang, et al., 2012)(Macedo, et al., 2009)(Srinivasulu, et al., 2012). Fang et al., (2012) mostrou que após a utilização das PA mesmo em tempo de tratamento reduzido, mas clinicamente aceitável de 60s, houve uma maior estabilização da camada híbrida verificada por meio de



esteriomicroscopia (Fang, et al.,2012).

A estabilização das fibras de colágeno pela reticulação com proantocianidina pode ser explicada por quatro maneiras de interação entre as fibras: interações covalentes, interações iônicas, interações de ligação de hidrogênio ou interações hidrofóbicas. Isto aumenta a força de adesão, o que se traduz em valores altos de resistência de união à dentina (Srinivasulu, et al.,2012).

O pré-condicionamento pela proantocianidina mostrou uma melhora na ligação resina-dentina a partir do adesivo à base de etanol quando comparado ao adesivo à base de água e acetona, tal resultante pode ser advinda pelo fato que as PA são um grupo específico de compostos polifenólicos (Fang, et al., 2012).

No que diz respeito ao módulo de elasticidade utilizando os agentes reticuladores através do glutaraldeído e da PA, (Bedran-Russo, et al., 2013) avaliou a matriz dentinária, antes e após o efeito das estratégias de biomodificação da dentina sobre três zonas da matriz dentinária (dentina afetada por cárie, dentina aparentemente normal abaixo da zona afetada por cárie e dentina sadia distante de locais cariados) (Bedran-Russo, et al., 2013). Observou-se que a modificação da superfície da dentina desmineralizada por reticuladores de colágeno resultou em aumento dos valores do mesmo, não havendo diferenças significativa entre as zonas. Assim, Leme-Kraus, et al.,2017 utilizando a PA e o HEPES observou também o aumento do módulo de elasticidade no grupo tratado com PA, e uma baixa solubilidade do colágeno que mantiveram suas propriedades elásticas em massa ao longo de um período de 12 meses (Leme-Kraus, et al.,2017).

Na avaliação da vedação da interface adesiva, utilizando PA e HEPES, foram criadas biointerfaces dentina-resina com adesão robusta e estável nas superfícies de dentina tratadas, levando a uma diminuição drástica da permeabilidade interfacial. De acordo com os autores, as proantocianidinas fornecem um novo mecanismo de adesão aos tecidos ricos em colágeno tipo I que não depende de monômeros hidrofílicos (Leme-Kraus, et al.,2016).

Com base nos dados obtidos por Xie, et al., 2008, o uso de PA em dentina desmineralizada pode melhorar positivamente o processo de remineralização por dois mecanismos distintos. A PA pode contribuir com a deposição mineral na camada superficial da lesão de cárie assim como interagir com a porção orgânica da dentina (fibras colágenas) reforçando as ligações intra e intermoleculares e, assim, estabilizando a matriz de colágeno exposta (Xie, et al., 2008).

Na análise do modo de fratura, após a utilização dos agentes glutaraldeído e PA foram observadas falhas coesivas principalmente na resina e no topo da cama híbrida (Macedo, et al, 2009). Fang, et al., 2012 utilizando os mesmos agentes, encontrou com mais frequência fraturas mistas na parte superior da camada híbrida (Fang, et al., 2012).

Por se tratar de estudos in vitro, pode ser necessária a realização de novos trabalhos que se tenha um protocolo clínico aceitável no que diz respeito a concentração de um agente reticulador, com um tempo de trabalho clínico e uma avaliação do seu comportamento a longo prazo.

## 5. Conclusão

Baseado na bibliografia consultada, verifica-se que os agentes reticuladores de colágeno como biomodificadores de dentina através do efeito de reticulação possuem a capacidade de melhorar as propriedades mecânicas do colágeno dentinário exposto, e sua utilização clínica pode ser uma abordagem que poderá melhorar a longevidade da interface dente-restauração. Sugere-se mais estudos detalhados para testar outros tipos de agentes reticuladores, para afim de ter uma boa aplicabilidade clínica e chegar-se em diferentes tempos e concentrações, havendo a eficácia e diminuindo o tempo de trabalho e melhor adesão a superfície dentária.

## Referências

- Aydin, B., Leme-Kraus, A. A., Vidal, C. M. P., Aguiar, T. R., Phansalkar, R. S., Nam, J.-W., McAlpine, J. B., Chen, S.-N., Pauli, G. F., & Bedran-Russo, A. K. (2019). Evidence to the role of interflavan linkages and galloylation of proanthocyanidins at sustaining long-term dentin biomodification. *Dental Materials*, 35(2), 328–334.
- Bedran-Russo, A. K. B., Pereira, P. N. R., Duarte, W. R., Drummond, J. L., & Yamauchi, M. (2007). Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 80(1), 268–72.
- Bedran-Russo, A. K., Karol, S., Pashley, D. H., & Viana, G. (2013). Site specific properties of carious dentin matrices biomodified with collagen cross-linkers. *Am J Dent*, 26(5), 244–8.
- Bedran-Russo, A. K. B., Pashley, D. H., Agee, K., Drummond, J. L., & Miescke, K. J. (2008). Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 86B(2), 330–334.
- Breschi, L., Mazzoni, A., Ruggeri, A., Cadenaro, M., Di Lenarda, R., & De Stefano Dorigo, E. (2008). Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface. *Dental Materials*, 24(1), 90–101.
- Carrilho, M. R. (2012). Can Exogenous Protease Inhibitors Control Dentin Matrix Degradation? *Journal of Dental Research*, 91(12), 1099–1102.
- Carrilho, M. R. O., Carvalho, R. M., de Goes, M. F., di Hipólito, V., Geraldini, S., Tay, F. R., Pashley, D. H., & Tjäderhane, L. (2007). Chlorhexidine Preserves Dentin Bond in vitro. *Journal of Dental Research*, 86(1), 90–94.
- Chiang, Y. S., Chen, Y. L., Chuang, S. F., Wu, C. M., Wei, P. J., Han, C. F., Lin, J. C., & Chang, H. T. (2013). Riboflavin-ultraviolet-A-induced collagen cross-linking treatments in improving dentin bonding. *Dental Materials*, 29(6), 682–692.
- Cova, A., Breschi, L., Nato, F., Ruggeri, A., Carrilho, M., Tjäderhane, L., Prati, C., Di Lenarda, R., Tay, F. R., Pashley, D. H., & Mazzoni, A. (2011). Effect of UVA-activated Riboflavin on Dentin Bonding. *Journal of Dental Research*, 90(12), 1439–1445.
- Fang, M., Liu, R., Xiao, Y., Li, F., Wang, D., Hou, R., & Chen, J. (2012). Biomodification to dentin by a natural crosslinker improved the resin–dentin bonds. *Journal of Dentistry*, 40(6), 458–466.
- Green, B., Yao, X., Ganguly, A., Xu, C., Dusevich, V., Walker, M. P., & Wang, Y. (2010). Grape seed proanthocyanidins increase collagen biodegradation resistance in the dentin/adhesive interface when included in an adhesive. *Journal of Dentistry*, 38(11), 908–915.
- Han, B., Jaurequi, J., Tang, B. W., & Nimni, M. E. (2003). Proanthocyanidin: a natural crosslinking reagent for stabilizing collagen matrices. *J Biomed Mater Res A*. 65(1), 118–24.
- Hashimoto, M., Ohno, H., Sano, H., Kaga, M., & Oguchi, H., (2003). In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials*. 24(21), 3795–803.
- Hass, V., Luque-Martinez, I. V., Gutierrez, M. F., Moreira, C. G., Gotti, V. B., Feitosa, V. P., Koller, G., Otuki, M. F., Loguercio, A. D., & Reis, A. (2016). Collagen cross-linkers on dentin bonding: Stability of the adhesive interfaces, degree of conversion of the adhesive, cytotoxicity and in situ MMP inhibition. *Dental Materials*, 32(6), 732–741.
- Ku, C. S., Sathishkumar, M., & Mun, S. P. (2007). Binding affinity of proanthocyanidin from waste *Pinus radiata* bark onto proline-rich bovine achilles tendon collagen type I. *Chemosphere*. 67(8), 1618–27.
- 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. (2016). Biostability of the Proanthocyanidins-Dentin Complex and Adhesion Studies. *Journal of Dental Research*, 96(4), 406–412.
- Liu, Y., Tjäderhane, L., Breschi, L., Mazzoni, A., Li, N., Mao, J., Pashley, D. H., & Tay, F. R. (2011). Limitations in Bonding to Dentin and Experimental Strategies to Prevent Bond Degradation. *Journal of Dental Research*, 90(8), 953–968.
- Macedo, G. V., Yamauchi, M., & Bedran-Russo, A. K. (2009). Effects of Chemical Cross-linkers on Caries-affected Dentin Bonding. *Journal of Dental Research*, 88(12), 1096–1100.
- Malacarne, J., Carvalho, R. M., de Goes, M. F., Svizero, N., Pashley, D. H., Tay, F. R., Yiu, C. K., & Carrilho, M. R. de O. (2006). Water sorption/solubility of dental adhesive resins. *Dental Materials*, 22(10), 973–980.
- Nakabayashi, N., Kojima, K., & Masuhara, E. (1982). A promoção da adesão pela infiltração de monômeros em substratos dentais. *Jornal de pesquisa de materiais biomédicos*, 16 (3), 265-273.
- Gré, C. P., Lise, D. P., Ayres, A. P., De Munck, J., Tezvergil-Mutluay, A., Seseogullari-Dirihan, R., Lopes, G. C., Van Landuyt, K., & Van Meerbeek, B. (2018). Do collagen cross-linkers improve dentin's bonding receptiveness? *Dental Materials: Official Publication of the Academy of Dental Materials*, 34(11), 1679–1689.
- Ricci, H. A., Sanabe, M. E., De Souza Costa, C. A., Pashley, D. H., & Hebling, J. (2010). Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. *European Journal of Oral Sciences*, 118(4), 411–416.
- Silva Sousa, A. B., Vidal, C. M. P., Leme-Kraus, A. A., Pires-de-Souza, F. C. P., & Bedran-Russo, A. K. (2016). Experimental primers containing synthetic and natural compounds reduce enzymatic activity at the dentin-adhesive interface under cyclic loading. *Dent Mater*. 32(10), 1248–55.
- Srinivasulu, S., Vidhya, S., Sujatha, M., & Mahalaxmi, S. (2012). Shear Bond Strength of Composite to Deep Dentin After Treatment With Two Different Collagen Cross-linking Agents at Varying Time Intervals. *Operative Dentistry*, 37(5), 485–491.

Sung, H. W., Chang, Y., Chiu, C. T., Chen, C. N., & Liang, H. C. (1999). Crosslinking characteristics and mechanical properties of a bovine pericardium fixed with a naturally occurring crosslinking agent. *J Biomed Mater Res.* 47(2), 116–26.

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.

Vargas, M. A., Cobb, D. S., & Armstrong, S. R. (1997). Resin-dentin shear bond strength and interfacial ultrastructure with and without a hybrid layer. *Oper Dent.* 22(4), 159–66.

Vidal, C. M. P., Tjäderhane, L., Scaffa, P. M., Tersariol, I. L., Pashley, D., Nader, H. B., Nascimento, F. D., & Carrilho, M. R. (2013). Abundance of MMPs and Cysteine Cathepsins in Caries-affected Dentin. *Journal of Dental Research*, 93(3), 269–274.

Wang, Y., Spencer, P., & Yao, X., (2006). Micro-Raman imaging analysis of monomer/mineral distribution in intertubular region of adhesive/dentin interfaces. *J Biomed*, 11(2), 24005.

Xie, Q., Bedran-Russo, A. K., & Wu, C. D. (2008). In vitro remineralization effects of grape seed extract on artificial root caries. *Journal of Dentistry*, 36(11), 900–906.