

Influencia de los inhibidores de las metaloproteinasas, agentes reticuladores y remineralización biomimética en la longevidad de la unión adhesiva. Parte III. Agentes Reticuladores.

En esta tercera entrega se analizarán el origen y las propiedades de los agentes reticuladores.

Metalloproteinases inhibitors, cross-linking agents and biomimetic remineralization influence in the adhesive bond longevity. Part III. Cross-linking agents.

In this third issue cross-linking agents's origin and properties will be analyzed.

Autora

Dra. Joanna Vola

*Especialista en Odontología Restauradora Integral. Docente Grado 2
Titular Clínica de Operatoria Dental II, Clínica Integrada III, Facultad de Odontología, Universidad de la República.*

Entregado para revisión: 27 de octubre de 2015

Aceptado para publicación: 10 de noviembre de 2015

Resumen

Las propiedades mecánicas del colágeno se deben a agentes intrínsecos de entrecruzamiento [Al-Ammar et al, 2009]. El aumento en el número de enlaces de la molécula de colágeno mejora su estabilidad e integridad, colaborando con el mantenimiento de propiedades adecuadas de la unión adhesiva a lo largo del tiempo [Bedran-Russo et al, 2009; Breschi et al, 2008].

Existen varios enfoques que permiten modificar el sustrato dentinario mediante la promoción de la formación de enlaces exógenos, con el objetivo de aumentar la resistencia de la red de colágeno [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008]. Estos enfoques se dividen en métodos mecánicos [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Castellan et al, 2010; Han et al, 2003] y método fotooxidativo [Cova et al, 2011]. Dentro de los primeros, los agentes reticuladores de origen natural son capaces de estabilizar el colágeno de la dentina [Bedran-Russo et al, 2007] sin afectar la resistencia de la unión adhesiva y sin generar toxicidad.

Sin embargo, el uso de estos agentes por sí solo no permite asegurar la estabilidad de la unión adhesiva a lo largo del tiempo; porque como es sabido, la longevidad de dicha unión no depende únicamente de las características del sustrato, sino también de propiedades inherentes al sistema adhesivo por un lado, y de la presencia de humedad por otro.

Palabras claves: Restauraciones adheridas, capa híbrida, interfaz resina-dentina, inhibidores de las MMP, agentes reticuladores, remineralización biomimética.

Abstract:

The mechanical properties of collagen are due to intrinsic crosslinking agents [Al-Ammar et al, 2009]. The increase in the number of links of the collagen molecule improves its stability and integrity, collaborating with the maintenance of adequate adhesive bonding properties over time [Bedran-Russo et al, 2009; Breschi et al, 2008].

There are several approaches for modifying the dentin substrate by promoting the formation of exogenous links, in order to increase the strength of the collagen network [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008]. These approaches are divided into mechanical methods [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Castellan et al, 2010; Han et al, 2003] and photo oxidating method [Cova et al, 2011]. Within the first, the naturally occurring crosslinking agents are capable of stabilizing the dentin collagen [Bedran-Russo et al, 2007] without affecting the strength of the adhesive bond and without generating any toxicity.

However, the use of these agents alone does not ensure the stability of the adhesive bond over time; because as it is known, the longevity of such binding does not only depend on the substrate's characteristics, but also on the adhesive system's properties on one side, and the presence of moisture on the other.

Key -words: bonded restorations, hybrid layer, dentine-adhesive interface, MMPs inhibitors, cross-linking agents, biomimetic remineralization.

INTRODUCCION

El colágeno debe sus propiedades traccionales a agentes intrínsecos de entrecruzamiento [Al-Ammar et al, 2009]. El aumento en el número de enlaces en el colágeno, ya sea por acción de agentes endógenos o exógenos, provee a la matriz de colágeno de mejores propiedades mecánicas y menores índices de degradación enzimática [Bedran-Russo et al, 2009].

Cuando la dentina se encuentra mineralizada las fibrillas de colágeno son protegidas por la fase mineral, por lo cual los agentes promotores de la formación de enlaces exógenos no pueden reaccionar con el colágeno con este fin [Bedran-Russo et al, 2009].

El uso de biomodificadores del colágeno en forma individual no previene en forma completa la disminución de las propiedades nanomecánicas a lo largo del tiempo [Dos Santos et al, 2011a] porque la longevidad de la interfaz resina-dentina no solo depende de las características del sustrato sino también de las características del sistema adhesivo.

La modificación del sustrato dentinario con agentes promotores de la formación de enlaces exógenos permite aumentar la resistencia de la red de colágeno [Bedran-Russo et al 2007; Bedran-Russo et al, 2008], mejorando la estabilidad e integridad de las fibrillas de colágeno dentro de la capa híbrida, lo que es crucial para el mantenimiento de la efectividad de la unión adhesiva a lo largo del tiempo [Breschi et al, 2008].

Los enfoques disponibles para aumentar la cantidad de enlaces a nivel del colágeno pueden ser divididos en:

- métodos mecánicos, en los cuales se utilizan diferentes soluciones de agentes reticuladores [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Castellan et al, 2010; Han et al, 2003].

- métodos físicos, también llamados foto oxidativos, que utilizan la exposición a la luz, especialmente la radiación ultravioleta [Cova et al, 2011].

DESARROLLO

Método foto oxidativo.

Consiste en un método combinado de aplicación de un primer que contiene riboflavina y luego la radiación con UVA [Cova et al, 2011].

La riboflavina (vitamina B2) produce radicales libres al ser fotoactivada con longitudes de onda de 270, 366 y 445 nm, de manera que se liberan especies reactivas de oxígeno y la luz es absorbida, formando enlaces cruzados covalentes entre moléculas adyacentes de colágeno a través de la oxidación. La aplicación de riboflavina fotoactivada previo a la adhesión aumenta la resistencia adhesiva inmediata [Cova et al, 2011; Ramos et al, 2015] pero no disminuye la nanofiltración inmediata, la cual se reduce significativamente luego de un período de seis meses a un año de envejecimiento in vitro [Cova et al, 2011].

Métodos mecánicos.

El colágeno tipo I presente en los tejidos en forma de

fibrillas es estabilizado por enlaces covalentes intermoleculares e intramoleculares. Los agentes químicos reticuladores aumentan esta estabilización mediante la promoción de la formación de nuevos enlaces [Bedran-Russo et al, 2007; Han et al, 2003].

La inducción de enlaces exógenos en el colágeno por medio de agentes reticuladores naturales o sintéticos ha sido propuesta como un mecanismo para mejorar la estabilidad mecánica y reducir la biodegradación de las fibrillas de colágeno [Bedran-Russo et al, 2007; Fang et al, 2012; Han et al, 2003].

Cuando las moléculas de colágeno se encuentran enlazadas por acción de un agente reticulador, los sitios que sirven como sustrato para las colagenasas pueden ser escondidos o modificados debido al plegamiento proteico, y la digestión enzimática puede ser significativamente detenida [Walter et al, 2008], a la vez que se produce un aumento en la rigidez del colágeno dentinario [Cova et al, 2011].

AGENTES RETICULADORES

Glutaraldehído.

El glutaraldehído es un agente reticulador sintético dialdehído, ampliamente utilizado como agente fijador. Se ha demostrado que puede mejorar las propiedades mecánicas de varios tejidos biológicos basados en colágeno mediante la fijación de proteínas, dada su afinidad molecular por los grupos de nitrógeno activos de los aminoácidos [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Dos Santos et al, 2011a; Dos Santos et al, 2011b]. A pesar de su habilidad para promover la formación de enlaces cruzados en el colágeno, es también conocido por su citotoxicidad [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Han et al, 2003]. El tratamiento dentinario con GD previo a la utilización de un agente adhesivo reduce sustancialmente la pérdida de mineral y la profundidad de la lesión cariosa. Lo que es más, puede inhibir la caries radicular [Walter et al, 2008] y prevenir la desmineralización de la dentina [Arends et al, 1989]. La reacción entre el GD y la dentina está más probablemente limitada a la superficie dentinaria, ya que la penetración del GD es muy lenta. Por ejemplo, la penetración de una solución de GD al 2% a través de aproximadamente 200 micrómetros de profundidad en la dentina lleva más de una semana. El GD promueve la formación de enlaces en la matriz dentinaria, lo cual lleva a un transporte reducido de fosfato y calcio desde la dentina. Estos enlaces cruzados exógenos inducidos por su utilización son suficientes para afectar en forma positiva las propiedades mecánicas de la matriz dentinaria expuesta y, consecuentemente, aumentar la resistencia traccional de la unión adhesiva [Al-Ammar et al, 2009; Bedran-Russo et al, 2008], así como también disminuir los índices de degradación tisular [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Dos Santos et al, 2011b]. Si bien el colágeno es el componente orgánico más alterado por el uso de GD, presumiblemente el

material orgánico no colagenoso es también afectado [Arends et al, 1989].

El GD reacciona en forma primaria mediante la formación de enlaces inter e intramoleculares con los grupos amino de los residuos peptídicos lisina e hidroxilisina de las fibrillas de colágeno, a través de sus grupos funcionales aldehído [Al-Ammar et al, 2009; Bedran-Russo et al, 2007; Dos Santos et al, 2011a; Dos Santos et al, 2011b; Macedo et al, 2009; Walter et al, 2008]. Los nuevos enlaces exógenos formados son efectivos en aumentar el módulo elástico de la dentina desmineralizada, aumentando la rigidez de las fibrillas de colágeno [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Castellan et al, 2010]. Sin embargo, la reacción parece estar limitada por la disponibilidad de estos grupos amino libres, por lo cual los valores del módulo elástico alcanzan un tope [Bedran-Russo et al, 2008]. Con la polimerización del GD, subsecuente a la fijación, se puede crear una estructura con una reticulación aumentada a nivel de las fibrillas de colágeno [Bedran-Russo et al, 2007; Macedo et al, 2009].

Muchas veces el procedimiento adhesivo implica la utilización de dentina afectada por caries como sustrato para la adhesión, en donde la resistencia de la unión adhesiva es menor. Cuando la dentina cariada es tratada con GD la resistencia de la unión alcanza valores comparables -si bien algo inferiores- a los de la dentina sana, lo que indica un aumento en la estabilidad del colágeno [Macedo et al, 2009].

In vivo, un segundo mecanismo de acción del GD puede actuar simultáneamente. Es sabido que este compuesto es desinfectante y esterilizante, y la eficacia en este sentido depende de la concentración del pH, la temperatura y el tiempo de exposición. Se especula que parte de la acción del GD in vivo es causada por el hecho de que, al ser antibacteriano, puede influenciar el crecimiento de la placa microbiana, si bien este efecto tiene poca duración [Arends et al, 1989].

Una desventaja del GD es su alta citotoxicidad [Bedran-Russo et al, 2008], la cual puede provenir de residuos no reaccionados [Han et al, 2003]. La baja concentración requerida para evitar este efecto adverso no es efectiva como agente reticulador [Walter et al, 2008] debido a que los enlaces inducidos en la dentina no conducen a un aumento de la resistencia traccional de la unión a este tejido [Bedran-Russo et al, 2007]. Para superar esta desventaja se han estudiado agentes reticuladores naturales como la PA [Bedran-Russo et al, 2007].

Proantocianidina.

La PA es una clase de bioflavonoide que se encuentra en la naturaleza como metabolito secundario de plantas [Han et al, 2003], ampliamente presente y disponible en frutas (nueces, uvas, cerezas, arándanos y cacao), vegetales, semillas, flores y en las hojas y corteza de ciertas especies de árboles (pinos, olmo), [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Castellan et al, 2011; Espasinghe et al, 2012; Han et al, 2009]. Su concentración en vegetales y frutas, exceptuando las uvas y el cacao que están entre las fuentes más ricas de PA, es inferior al resto de las especies del reino vegetal [Al-Ammar et al, 2009; Espasinghe et al, 2012]. Es un agente reticulador biocompatible debido a su baja toxicidad -la PA es 120 veces menos tóxica que el GD- [Han et al, 2003], que posee vastas actividades biológicas entre las cuales podemos destacar: potente antioxidante [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Dos Santos et al, 2011b; Espasinghe et al, 2012; Han et al, 2003; Song et al, 2003], antibacteriana, antiviral, anticarcinogénica, antiinflamatoria, antialérgica, analgésica y efectos inhibitorios enzimáticos [Song et al, 2003]. Tiene un índice de reacción más rápido que el de otros agentes reticuladores naturales (genipina) y es estable por largos períodos de tiempo en animales [Han et al, 2003]. Por lo tanto la PA puede ser una mejor alternativa a los reticuladores sintéticos [Al-Ammar et al, 2009; Bedran-Russo et al, 2007].

La PA es un tanino condensado, o polifenol natural, compuesto de subunidades (monómeros, oligómeros y polímeros) condensadas de flavan 3, catecina, epicatecina y galato de epicatecina, unidas mayormente por enlaces carbono [Castellan et al, 2011; Dos Santos et al, 2011b; Espasinghe et al, 2012; Song et al, 2003]. Su estructura varía dependiendo de la naturaleza de los bloques de flavan-3 que la constituyen [Walter et al, 2008]. El número de unidades de catecina dentro de la procianidina tiene influencia en su actividad [Song et al, 2003]. La PA consiste en estructuras altamente hidroxiladas capaces de formar complejos insolubles con carbohidratos y proteínas [Al-Ammar et al, 2009; Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Macedo et al, 2009].

La proantocianidina, al igual que otros agentes reticuladores sintéticos del colágeno de la dentina, puede biomodificar la matriz dentinaria desmineralizada y mejorar las propiedades mecánicas, disminuir los niveles de biodegradación y aumentar la resistencia de la unión dentina-resina a la tracción [Al-Ammar et al, 2009; Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et

Cuando las moléculas de colágeno se encuentran enlazadas por el agente reticulador, los sitios que sirven como sustrato para las colagenasas son escondidos o modificados, la digestión enzimática puede ser significativamente detenida y la rigidez del colágeno aumentada.

al, 2008; Macedo et al, 2009]. Este agente reticulador natural aumenta las síntesis de colágeno y fibronectina, acelera la conversión del colágeno soluble a insoluble durante el desarrollo [Al-Amman et al, 2009; Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Han et al, 2003; Macedo et al, 2009] y aumenta y estabiliza los enlaces cruzados del colágeno [Castellan et al, 2011]. La PA derivada del GSE inhibe la progresión de caries radiculares artificiales [Walter et al, 2008].

Los mecanismos de interacción entre la PA y las proteínas incluyen: interacciones covalentes, interacciones iónicas, uniones mediante interacciones hidrógeno e interacciones hidrofóbicas [Han et al, 2003]. La PA interactúa con las proteínas ricas en prolina, como lo es el colágeno, precipitándolas a través de las uniones antes mencionadas [Kaira et al, 2013; Espasinghe et al, 2012; Han et al, 2003], promoviendo la formación de enlaces exógenos [Han et al, 2003].

Los polipéptidos con alto contenido de prolina presentan una conformación abierta, y son fuertes receptores de uniones hidrógeno, de ahí su gran afinidad por el tanino, siendo ésta una unión resistente [Kaira et al, 2013; Hagerman et al, 1981; Han et al, 2003]. Esta precipitación es más eficiente en valores de pH cercanos a su punto isoeléctrico [Hagerman et al, 1981].

La PA estabiliza y aumenta los enlaces cruzados de las fibrillas de colágeno de tipo I. El mecanismo primario de estabilización del colágeno es la formación de uniones hidrógeno entre los grupos carbono-amida proteicos y el hidroxil fenólico [Kaira et al, 2013; Hagerman et al, 1981; Walter et al, 2008], si bien también se forman uniones covalentes e hidrofóbicas. Esta unión hidrógeno es la responsable del aumento de la temperatura de desnaturalización de los tejidos fijados [Hagerman et al, 1981] y constituye el mejor tipo de enlace de estabilización del colágeno tratado con PA. La relativa gran estabilidad de estos enlaces comparados con otros polifenoles, como los taninos, sugiere una estructura específica [Hagerman et al, 1981] que crea zonas hidrofóbicas. Tales microambientes debido a su capacidad de disminución de la constante dieléctrica mejoran la estabilidad de las uniones hidrógeno. La hidrofobia y propiedades mecánicas del colágeno biomodificado con PA mejoran como resultado del aumento del entrecruzamiento, disminuyendo la permeabilidad al agua debido a la formación de una estructura más densa [Espasinghe et al, 2012; Hagerman et al, 1981]. Si bien los taninos son generalmente considerados agentes no específicos de unión de proteínas, los estudios muestran que la PA precipita eficientemente una proteína en presencia de un gran exceso de otra proteína. La especificidad de interacción es una función del tamaño, conformación y

carga de la molécula proteica [Hagerman et al, 1981]. Las interacciones entre la PA y el colágeno pueden ser desorganizadas por detergentes o solventes debilitadores de las uniones hidrógeno [Han et al, 2003].

El pre-tratamiento de la dentina desmineralizada con PA aumenta la resistencia de la unión de adhesivos simplificados de grabado y lavado tanto a la dentina sana [Al-Amman et al, 2009; Castellan et al, 2010] como a la dentina afectada por caries [Macedo et al, 2009]. También aumentan las propiedades nanomecánicas de las interfaces adheridas cuando se utiliza PA en la dentina una vez grabada [Dos Santos et al, 2011a; Dos Santos et al, 2011b]. La estabilidad del complejo colágeno dentinario-PA contribuye a altos valores de dureza y módulo elástico de la capa híbrida y dentina subyacente [Dos Santos et al 2011a]. La mejora de las propiedades mecánicas observadas es dependiente

del tiempo de actuación del agente reticulador [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008]. Es interesante resaltar que la fuente de PA tiene un efecto estadísticamente significativo en los valores de rigidez [Castellan et al, 2010].

La gran reducción de la nanofiltración observada en la capa híbrida cuando se utiliza un adhesivo conteniendo 2% de PA puede ser atribuida a la reducida hidrofilia y mejor infiltración de la dentina desmineralizada por la resina. Además de agua, los espacios interfibrilares

de la dentina grabada con ácido también contienen proteoglicanos altamente hidratados y cargados negativamente que forman un hidrogel dentro de ese espacio. Estos hidrogeles pueden ser responsables de la separación molecular, al no permitir a los monómeros resinosos hidrofóbicos de alto peso molecular difundir en los espacios interfibrilares que contienen agua residual. Se ha demostrado que el contenido de glucosaminoglicanos de la dentina tratada con PA se reduce significativamente, lo cual puede mejorar las propiedades mecánicas de la capa híbrida cambiando los niveles de hidratación y la difusividad molecular a través de la dentina [Espasinghe et al, 2012].

La resistencia a la degradación enzimática es una propiedad crucial de la matriz dentinaria tratada con PA, dado que indica un aumento en la estabilidad y la posibilidad de un mecanismo protector durante un largo período de tiempo [Castellan et al, 2010]. Los resultados de los estudios muestran que la presencia de PA en un adhesivo inhibe la biodegradación de las fibrillas de colágeno desprotegidas en la capa híbrida. Esta resistencia aumentada a la degradación por las colagenasas bacterianas [Han et al, 2003] ha sido atribuida al ocultamiento de los sitios de clivaje en el colágeno [Espasinghe et al, 2012] debido a la formación de uniones hidrógeno con la PA liberada

Las mejoras en la resistencia y estabilidad de la capa híbrida y de la dentina subyacente por medio del uso de biomodificadores tisulares específicos puede aumentar la durabilidad a largo plazo de la interfaz.

del adhesivo experimental, así como también a la disminución de la actividad colagenasa. La inducción del entrecruzamiento interfibrilar también resulta en una disminución del grado de absorción de agua, lo que a su vez puede resultar en una disminución de la absorción de colagenasas y, por tanto, en una reducción de la degradación enzimática de la matriz dentinaria tratada con PA [Castellan et al, 2010; Castellan et al, 2011]. La concentración de la solución del agente reticulador utilizado es importante, no solo por la relación que guarda con el grado de entrecruzamiento que promueve, sino también para la eficiencia del mismo [Han et al, 2003]. El nivel de entrecruzamiento y grado de penetración de la PA puede ser controlado variando no solo su concentración, sino también las condiciones de la reacción, como ser el pH, temperatura, formas de PA (monomérica, dimérica y oligomérica) y los aditivos [Han et al, 2003]. No existen diferencias significativas en los valores de resistencia traccional, ya sea que se utilice como solvente agua o etanol. Al analizar las formas de fractura, se observa que la mayoría de las fallas son mixtas. Este tipo de fallas están asociadas con altas resistencias de la unión adhesiva. La mayoría de las fallas en los grupos tratados con pre acondicionadores con agua/etanol como solvente se presentan en la parte superior de la capa híbrida, observándose numerosos tags de resina en la interfaz de fractura que se extienden dentro de los túbulos dentinarios. Las fracturas mixtas son la forma más prevalente de falla en la porción superior de la capa híbrida de los grupos pre tratados con PA, mientras que se dan en la porción inferior de los grupos no tratados [Fang et al, 2012]. La PA exhibe efectos inhibitorios contra proteasas como ser las MMP, que son una familia de enzimas proteolíticas derivadas del huésped involucradas en la destrucción de las matrices de colágeno en la patogénesis de la caries dentinaria y enfermedad periodontal [Fang et al, 2012]. La reacción inhibitoria de la PA involucra quelación de metales, entrapamiento de radicales o unión directa a enzimas [Song et al, 2003]. En este sentido, la PA es el biomodificador dentinario más prometedor para la estabilización del colágeno expuesto en la capa híbrida y la mejora de la matriz dentinaria contra la degradación [Fang et al, 2012]. Productos naturales, como la corteza de olmo -cuyo componente activo más importante es el oligómero de PA [Walter et al, 2008]- y el extracto de cerezas, exhiben un potente efecto inhibitorio de la producción y actividad de MMP y proteasas en la enfermedad periodontal, siendo el primero menos efectivo que el oligómero de PA [Song et al, 2003] que proviene del GSE. Adicionalmente a su efecto reticulador, la PA presente en estos agentes también inhibe la producción de MMP por parte de los macrófagos y su actividad catalítica [Espasinghe et al, 2012; Pashley et al, 2004]. Por otro lado, es importante resaltar que el tratamiento con PA resulta en inhibición de la lesión de caries a nivel radicular. Esto puede ser debido no solo a una

disminución de la digeribilidad del colágeno, sino también a la prevención de la desmineralización de la dentina. La fijación del colágeno dentinario puede reducir la difusión de iones de calcio y fosfato fuera de la lesión dentinaria [Walter et al, 2008].

Para simplificar el uso de PA en situaciones clínicas, ésta ha sido recientemente incorporada en forma directa en adhesivos dentales [Espasinghe et al, 2012; Green et al, 2010]. Esto le permite a la PA permanecer en la capa híbrida por un extenso período de tiempo; de esa manera, mejora el grado de entrecruzamiento del colágeno en forma segura y efectiva, y su resistencia a la biodegradación; lo cual se ha demostrado tanto *in vitro* como *in vivo* [Green et al, 2010]. También mejoran en forma significativa las propiedades nanomecánicas (módulo de elasticidad y nanodureza) de las interfaces resina-dentina [Dos Santos et al, 2011a; Dos Santos et al, 2011b], así como también la resistencia de la unión resina-dentina [Al-Ammar et al, 2009], esto tanto para la dentina sana como cariada [Macedo et al, 2009].

Se ha estudiado el efecto de la incorporación de concentraciones de 1%, 2% y 3% de PA en un adhesivo. La incorporación de PA afecta significativamente la resistencia traccional de la unión adhesiva, obteniéndose los valores menores para el adhesivo con 3% de PA. Esto se debe a que en esta concentración, la PA reduce la eficiencia de polimerización de las resinas porque tiene la capacidad de eliminar radicales libres. En relación a la nanofiltración, el adhesivo conteniendo 3% de PA mostró un valor significativamente más alto que todos los otros grupos, mientras que el adhesivo conteniendo 2% de PA mostró la menor nanofiltración. La PA al 3% induce la formación de micro poros, lo cual resulta en una menor resistencia adhesiva y una mayor frecuencia de canales de agua, por lo tanto, mayor número de fallas adhesivas [Espasinghe et al, 2012]. También se han preparado preacondicionadores basados en PA en solventes comúnmente utilizados en los sistemas adhesivos corrientes y se ha testeado su efecto en tiempos de tratamiento más cortos (60 ó 120 segundos) con buenos resultados [Fang et al, 2012]. El pre acondicionamiento transitorio con PA puede afectar el grado de conversión de la resina [Green et al, 2010]. Esto puede ser el resultado de la incompatibilidad o la interacción entre la PA y algunos de los componentes del adhesivo [Fang et al, 2012].

Si bien la mejora de la unión es independiente del solvente utilizado, variaciones en los pre acondicionadores basados en PA, así como también en el sistema adhesivo, resultan en efectos diferentes. El pre acondicionamiento con PA mejora la unión resina-dentina cuando el solvente del adhesivo utilizado es agua/etanol en mejor forma que cuando es agua/acetona. Varios factores deben ser tenidos en cuenta. Factores como los solventes, el proceso de extracción del producto, el pH y la temperatura pueden influenciar su estructura y composición así como también su potencia reticuladora en general [Fang et al, 2012].

La discrepancia en los solventes puede tener un efecto negativo en la resistencia de la unión. Esta puede ser una de las razones por las cuales el pre acondicionador en base a PA preparado en etanol o agua se comporta mejor en relación a la mejora en la resistencia traccional cuando se adhiere con un adhesivo con agua y etanol. La dentina desmineralizada y pre tratada con PA muestra valores más altos de módulo elástico cuando la PA es disuelta en agua destilada que en cualquier otro solvente. Los valores del parámetro de solubilidad del etanol y acetona son más bajos que los de agua destilada, por lo cual un menor número de sitios para uniones de hidrógeno serán ocupados por el débil enlace que genera el solvente. Estos sitios disponibles para uniones de hidrógeno se acoplan con la estructura de colágeno y permitirán luego uniones hidrógeno más directas entre la PA y el colágeno, o entre las moléculas de colágeno entre sí, lo que inducirá enlaces cruzados en el colágeno resultando en mejores propiedades mecánicas. Se ha reportado que el etanol puede disminuir la constante dieléctrica del medio y así estimular las interacciones entre el colágeno y la PA mejorando la estabilidad de las uniones hidrógeno. Por lo tanto, el etanol puede ser el solvente preferido para los pre acondicionadores basados en PA, especialmente cuando la PA es extraída por medio del uso de etanol [Fang et al, 2012; Han et al, 2003].

Es por estos motivos que la PA es introducida en el procedimiento adhesivo en forma separada, como un pre tratamiento, y no adicionándola en forma directa al adhesivo. Este paso separado no solamente evita los efectos adversos en el comportamiento de curado de los adhesivos sino que también permite una mayor incorporación de PA. Sin embargo, este paso extra complica el procedimiento clínico de adhesión y requiere de un mayor tiempo de consulta clínica [Fang et al, 2012]. Como no está claro si las interacciones entre la PA y el colágeno son estables in situ o la PA puede ser eliminada del colágeno a largo plazo, son necesarios un mayor número de estudios para elucidar los mecanismos de interacción entre la PA y la dentina desmineralizada en detalle. Se deberá evaluar el comportamiento del pre tratamiento con PA a largo plazo, el efecto de su incorporación en adhesivos dentales en las propiedades mecánicas y en la durabilidad de la unión adhesiva [Espasinghe et al, 2012; Fang et al, 2012], e investigar el efecto inhibitorio de la PA derivada del GSE en las MMP dentinarias unidas al colágeno [Espasinghe et al, 2012] y determinar su potencial como agente anticaries [Walter et al, 2008].

Extracto de semillas de uva.

El GSE es un tanino extraído de las semillas de uvas *Vitis Vitífera* por lo cual presenta una gran disponibilidad [Dos Santos et al, 2011a]. Consiste en una compleja mezcla de oligómeros y polímeros compuestos de flavan-3 catecina monomérico, epicatequinas y sus galatos [Castellan et al, 2010]. El componente predominante

son las PA oligoméricas (97,8%) [Dos Santos et al, 2011a; Dos Santos et al, 2011b], (95%) [Castellan et al, 2010], que son bien conocidas como agentes reticuladores naturales [Dos Santos et al, 2011a].

El GSE interactúa con proteínas para inducir enlaces cruzados mediante cuatro mecanismos diferentes: interacciones covalentes, interacciones iónicas, uniones hidrógeno e interacciones hidrofóbicas [Han et al, 2003]. Los cambios en las propiedades mecánicas y físicas de la matriz dentinaria promovidos por el GSE resultan en un aumento de la resistencia de la unión del sistema adhesivo a dentina [Al-Ammar et al, 2009; Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008] y en una mejora de la resistencia de la dentina en sí misma [Bedran-Russo et al, 2007; Bedran-Russo et al, 2008; Islam et al, 2012]. El uso de GSE produce los valores más altos de resistencia traccional de dicha unión [Al-Ammar et al, 2009; Bedran-Russo et al, 2008; Dos Santos et al, 2001b; Green et al, 2010], siendo los valores mayores cuando la dentina está sana que cuando está afectada por caries; si bien en este caso no son tan inferiores [Macedo et al, 2009]. El aumento de la resistencia de la unión adhesiva puede ser atribuido a la mejora en la estabilidad del colágeno debido al mayor número de enlaces [Bedran-Russo et al, 2008; Han et al, 2003]. La dentina tratada con GSE presenta una disminución en la degradación de colágeno que es atribuida al enmascaramiento de los sitios de reconocimiento de las colagenasas por parte del agente reticulador, o a la retención de fragmentos peptídicos clivados en la red formada por los nuevos enlaces [Macedo et al, 2009]. Ha sido reportado que la rigidez de la dentina desmineralizada puede ser afectada por la concentración y el tiempo de exposición a una solución de GSE [Bedran-Russo et al, 2008]. Se ha reportado que el GSE incorporado en un primer autograbante disminuye en forma significativa la resistencia inmediata de la unión y las propiedades mecánicas de la interfaz dentina-resina; al contrario de lo que sucede cuando es incorporado en un sistema adhesivo de grabado y lavado. Una posible explicación a estas diferencias es el uso de diferentes sistemas adhesivos. Cuando se utiliza un primer conteniendo GSE se observa la oclusión de los túbulos dentinarios por partículas de barrillo dentinario en la dentina acondicionada. Esta capa de barrillo dentinario pobremente disuelta puede ser la causa de los bajos valores de resistencia de la unión adhesiva obtenidos con ese procedimiento. Esta dificultad está relacionada al aparente tamaño molecular del GSE. Las unidades oligoméricas de PA que contiene el GSE comprometen la penetración y difusión de los monómeros funcionales del primer debido a su gran tamaño molecular [Islam et al, 2012]. Sin embargo, cuando este agente se incorpora en un sistema adhesivo de grabado y lavado los resultados obtenidos en términos de resistencia de la unión adhesiva y mejora de las propiedades del colágeno son muy buenos; incluso superiores a los obtenidos con

otros agentes reticuladores.

Ácido tánico.

El ácido tánico, forma comercial de tanino condensado, es un polifenol natural con una acidez débil que tiene la habilidad de modificar el colágeno químicamente. Este agente promotor de la reticulación del colágeno consiste en una mezcla compleja de ésteres [Bedran-Russo et al, 2009; Castellan et al, 2010].

El ácido tánico puede afectar las propiedades mecánicas y la estabilidad de la matriz dentinaria; así como las propiedades de la interfaz adhesiva. La formación de enlaces por medio de uniones hidrógeno es la responsable de los cambios que se producen al utilizar este agente. Mejora las propiedades de la dentina desmineralizada mediante el aumento del módulo elástico y la disminución de la degradación enzimática por efecto inhibitorio de las colagenasas, ya sea ocultando los sitios de clivaje o disminuyendo la actividad enzimática. También inhibe las MMP endógenas [Castellan et al, 2010]. Los cambios que se producen en la matriz dentinaria como consecuencia del uso de ácido tánico son dependientes de su concentración y del tiempo de exposición al agente, mientras que son independientes del pH utilizado. Este ácido se utiliza en una concentración de entre 10% y 20%. El tratamiento produce un aumento de la resistencia de la unión adhesiva a la tracción. La inducción de enlaces exógenos en la matriz de dentina lleva también a una disminución del grado de imbibición [Bedran-Russo et al, 2009; Castellan et al, 2010].

Galato de catecina.

Entre los agentes reticuladores encontramos el galato de epigala o catecina, la catecina más abundante en el té verde. Este agente reduce la desmineralización erosiva de la dentina, posiblemente a través de su propiedad inhibitoria de las MMP [Islam et al, 2012; Perdigão et al, 2013].

Hesperidina

La hesperidina (HPN) es un compuesto polifenólico, es decir un flavonoide, extraído de las frutas cítricas. Sus beneficios médicos incluyen efectos antioxidantes, antiinflamatorios y anticarcinogénicos [Islam et al, 2012]. Si bien el efecto reticulador de la HPN no ha sido bien elucidado, su unidad estructural fundamental es similar a la de las PA del GSE. Es por ello que la acción química de la HPN en el colágeno se explica de la misma forma que el efecto reticulador de las PA [Islam et al, 2012].

Cuando la HPN es incorporada en un primer autogrante se observa un aumento de la resistencia inmediata de la unión a dentina y una mejora en la dureza y módulo elástico de la interfaz dentina-resina. Se piensa que la aplicación de HPN en conjunción con los adhesivos dentales constituye un enfoque prometedor para mejorar la durabilidad de las uniones y conducir al

éxito clínico de las restauraciones adheridas. Un mayor número de estudios son necesarios para evaluar el performance a largo plazo de la HPN [Islam et al, 2012].

Genipina

La genipina (GE) es un agente reticulador natural y componente común de frutas, vegetales y semillas. Es obtenida principalmente del compuesto genoposide, que es aislado de la fruta Gardenia Jasminoides Ellis [Bedran-Russo et al, 2007]. Su origen natural le confiere la ventaja de no producir los efectos tóxicos que son reportados con el glutaraldehído, siendo estable por largos períodos de tiempo en animales [Han et al, 2003].

El tratamiento con GE aumenta la resistencia traccional del colágeno mediante la promoción de la formación de enlaces, indicando el efecto potencial del agente en la estabilización del colágeno de la dentina. Los mecanismos de reacción entre la GE y los tejidos biológicos no son bien comprendidos. La GE puede reaccionar con los grupos amino libres dentro de la molécula de colágeno; o de moléculas de colágeno adyacentes para formar enlaces intra e intermoleculares. A esto se suma que pueden darse enlaces entre fibrillas de colágeno, enlaces intermicrofibrilares, por medio de la polimerización de moléculas de GE previo a la formación de enlaces (enlaces oligoméricos) [Bedran-Russo et al, 2007; Walter et al, 2008]. Se ha propuesto que la GE polimeriza primero y luego reacciona con los grupos amino [Walter et al, 2008].

El tratamiento con GE resulta en inhibición de la lesión de caries a nivel radicular. Esto puede ser debido no solo a una disminución de la digeribilidad del colágeno, sino también a la prevención de la desmineralización de la dentina [Walter et al, 2008].

Extracto de semillas de cacao.

El extracto de semillas de cacao (CSE) presenta una composición simple, con oligómeros de bajo peso molecular. Está compuesto mayormente por unidades de epicatecina [Castellan et al, 2010] y contiene un 45% de PA [Castellan et al, 2010; Castellan et al, 2011]. El CSE promueve una importante disminución de la degradación enzimática, aumento de la rigidez y disminución del grado de imbibición de la matriz dentinaria [Castellan et al, 2010].

El tratamiento de la matriz dentinaria desmineralizada mediante el uso de agentes naturales promotores de la formación de enlaces exógenos en el colágeno, genera cambios estadísticamente significativos en sus propiedades mecánicas [Castellan et al, 2011]. Los valores aumentan conforme aumenta el tiempo de exposición a los agentes [Castellan et al, 2010]; mientras que, en relación a la concentración, los efectos son variados. Los mejores resultados se obtienen, en general, mediante el uso de GSE y CSE. Estos efectos se mantienen a largo plazo [Castellan et al, 2011].

La densa matriz de colágeno que se forma debido a

la acción de los agentes reticuladores es menos susceptible a la ruptura por fatiga cíclica y a la ruptura por propagación de fracturas, luego de una función intraoral prolongada en el tiempo [Bedran-Russo et al, 2008]. La dureza de la dentina no es alterada por la aplicación de los agentes reticuladores; sin embargo, sí aumenta la dureza de la capa híbrida [Dos Santos et al, 2011b]. Las mejoras en la resistencia y estabilidad de la capa híbrida y de la dentina subyacente por medio del uso de biomodificadores tisulares específicos, puede aumentar la durabilidad a largo plazo de la interfaz. El uso de productos naturales y de baja toxicidad, como el GSE, parece ser prometedor en relación al procedimiento adhesivo [Dos Santos et al, 2011a].

CONCLUSIONES

Sin duda, la adhesión es responsable de las más importantes innovaciones producidas en el ejercicio de la odontología en toda su historia y, particularmente, a partir de la última mitad del siglo XX [Henostroza et al, 2010].

Durante las dos décadas pasadas, los avances de la odontología adhesiva se han centrado en mejorar la resistencia de la unión resina-dentina, lo cual ha sido logrado. Actualmente se han identificado los mecanismos responsables de la falta de durabilidad de la unión resina-dentina y se está investigando en relación a la creación de materiales y técnicas que puedan mejorar la preservación de esta unión aumentando así su vida útil [Malacarne et al, 2006]. Existe gran preocupación acerca del envejecimiento de la interfaz resina-dentina debido a la degradación que experimenta la capa híbrida a lo largo del tiempo, relacionada a la absorción de agua e hidrólisis de la resina, así como también a la ruptura de la red de colágeno y degradación de esta proteína [Breschi et al, 2008].

Clínicamente solo se puede confiar en una unión diente-resina duradera cuando se utilizan técnicas de grabado total de tres pasos y los márgenes cavitarios se encuentran en esmalte. La adhesión a esmalte protege la interfaz diente-resina del proceso degradativo. En caso de utilizar sistemas adhesivos autograbantes, se debe optar por los de dos pasos [De Munck et al, 2003]. El uso de adhesivos simplificados exhibe no solamente los valores más bajos de resistencia de la unión resina-dentina, sino también una performance clínica poco predecible [Breschi et al, 2008].

Los dos patrones más importantes de degradación dentro de la capa híbrida -pérdida de la resina de los espacios interfibrilares y desorganización de las fibras de colágeno- sugieren la necesidad de terapias originales enfocadas no solo a la estabilidad de los componentes resinosos de la interfaz, sino también al contenido orgánico de la dentina involucrado en el tratamiento restaurador [Castellan et al, 2011].

Varios procedimientos clínicos han sido propuestos para optimizar la unión resina-dentina y reducir su envejecimiento: uso de una capa hidrofóbica, extensión

del tiempo de polimerización, uso de inhibidores de las MMP, impregnación mejorada y uso de agentes naturales promotores de la formación de enlaces en el colágeno luego del grabado ácido [Breschi et al, 2008]. La introducción de agentes reticuladores, reestructuradores y estabilizadores del colágeno, permite aumentar la resistencia inmediata de la unión adhesiva y estabilizarla a lo largo del tiempo. La integridad y la estabilidad duraderas son precondiciones para utilizar el colágeno como sustrato esencial para restauraciones adheridas [Castellan et al, 2011].

Los agentes reticuladores de origen natural, tales como GSE, PA, GE y CSE, son capaces de estabilizar el colágeno de la dentina. Desde que un aumento en las propiedades mecánicas del colágeno en la capa híbrida resulta en una vida más prolongada de la restauración, la inducción de enlaces con estos componentes biocompatibles puede ser beneficiosa para la odontología restauradora. Estudios adicionales están claramente justificados para evaluar los efectos a largo plazo de los agentes reticuladores en la resistencia de la unión de los sistemas adhesivos a dentina [Bedran-Russo et al, 2007].

El agente reticulador se utiliza luego del grabado ácido, como tratamiento previo a la aplicación del primer. Lo que aún no se ha logrado es establecer tiempos factibles de aplicación clínica del agente que permitan obtener resultados útiles. Esto guarda relación directa con la concentración del agente promotor de la formación de enlaces. Es decir que el tiempo de pre-tratamiento podría reducirse aumentando la concentración del agente reticulador o mediante el uso simultáneo de varios agentes reticuladores, de manera de hacerlo clínicamente más aplicable [Al-Amman et al, 2009]. Se está investigando la incorporación de agentes inhibidores de las MMP en los sistemas adhesivos, e incluso en los pasos operatorios que los preceden, como una alternativa aplicable en las maniobras operatorias posibles de ejecutarse clínicamente [Henostroza et al, 2010]. Un mayor número de estudios deberían esclarecer el rol de estos agentes en relación a las MMP dentinarias [Cova et al, 2011].

Cabe destacar la necesidad de evaluar el comportamiento a largo plazo de las interfaces biomecánicamente modificadas, así como también los efectos de los agentes reticuladores del colágeno en relación a todos y cada uno de los sistemas adhesivos, y en relación a composites con diferentes composiciones [Dos Santos et al, 2011b].

La biomodificación de la matriz dentinaria constituye un enfoque nuevo y original para mejorar las propiedades de los componentes más importantes de la unión resina-dentina [Dos Santos et al, 2011b].

El logro de una adhesión fuerte y estable entre el composite y la dentina continúa siendo un desafío en odontología restauradora [Breschi et al, 2008]; entre otros motivos debido a su imprevisibilidad. La dificultad de obtener una efectiva adhesión a la dentina

persiste a lo largo del tiempo, pese a la evolución antes mencionada.
En definitiva, el futuro de la odontología adhesiva es desafiante y atractivo.

REFERENCIAS

- Al-Ammar A, Drummond JL, Bedran-Russo AK.** (2009). The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*; 91(1): 419-424.
- Arends J, Ogaard B, Ruben J, Wemes J, Rölla G.** (1989) Influence of glutardialdehyde on dentin demineralization in vitro and in vivo. *Scand J Dent Res*; 97(4): 297-300.
- Bedran-Russo AK, Pereira PN, Duarte WR, Drummond JL, Yamauchi M.** (2007) Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*; 80(1): 268-272.
- Bedran-Russo AK, Pashley DH, Agee K, Drummond JL, Miescke KJ.** (2008) Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 86(2):330-4
- Bedran-Russo AK, Yoo KJ, Ema KC, Pashley DH.** (2009) Mechanical properties of tannic-acid-treated dentin matrix. *J Dent Res*.; 88(9): 807-811.
- 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. *Dent Mater*. ;24(1):90-101.
- Castellan CS, Pereira PN, Grande RH, Bedran-Russo AK.** (2010) Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. *Dent Mater*. ;26(10):968-73.
- Castellan CS, Bedran-Russo AK, Karol S, Pereira PN.** (2011) Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. *J Mech Behav Biomed Mater*. ; 4(7):1343-50.
- Cova A, Breschi L, Nato F, Ruggeri A Jr, Carrilho M, Tjäderhane L, Prati C, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH, Mazzoni A. (2011) Effect of UVA-activated riboflavin on dentin bonding. *J Dent Res*. ; 90(12):1439-45.
- De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, Lambrechts P, Vanherle G.** (2003) Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res*. ; 82(2):136-40.
- Dos Santos PH, Karol S, Bedran-Russo AK.** (2011) Long-term nano-mechanical properties of biomodified dentin-resin interface components. *J Biomech*. ; 44(9):1691-94.
- Dos Santos PH, Karol S, Bedran-Russo AK.** (2011) Nanomechanical properties of biochemically modified dentin bonded interfaces. *J Oral Rehabil*. ; 38(7):541-46.
- Epasinghe DJ, Yiu CK, Burrow MF, Tay FR, King NM.** (2012) Effect of proanthocyanidin incorporation into dental adhesive resin on resin-dentine bond strength. *J Dent*. ; 40(3):173-80.
- 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. *J Dent*.; 40(6):458-66.
- Green B, Yao X, Ganguly A, Xu C, Dusevich V, Walker MP, Wang Y.** (2010) Grape seed proanthocyanidins increase collagen biodegradation resistance in the dentin/adhesive interface when included in an adhesive. *J Dent*.; 38(11):908-15.
- Hagerman AE, Butler LG.** (1981)The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *J Biol Chem*.; 256(9):4494-97.
- 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: 118-124.
- Henostroza Haro, G. et al.** (2010) Adhesión en odontología restauradora. 2a ed. Madrid: Ripano.
- Islam S, Hiraishi N, Nassar M, Yiu C, Otsuki M, Tagami J. (2012) Effect of natural cross-linkers incorporation in a self-etching primer on dentine bond strength. *J Dent*.; 40(12):1052-59.
- Kalra M, Iqbal K, Nitisusanta LI, Daood U, Sum CP, Fawzy AS.** (2013) The effect of proanthocyanidins on the bond strength and durability of resin sealer to root dentine. *Int Endod J*.; 46(2):169-78.
- Macedo GV, Yamauchi M, Bedran-Russo AK.** (2009) Effects of chemical cross-linkers on caries-affected dentin bonding. *J Dent Res*.; 88(12):1096-100.

- Malacarne J, Carvalho RM, de Goes MF, Svizero N, Pashley DH, Tay FR, Yiu CK, Carrilho MR.** (2006) Water sorption/solubility of dental adhesive resins. *Dent Mater.* ; 22(10):973-80.
- Pashley DH, 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(3):216-21.
- Perdigão J, Reis A, Loguercio AD.** (2013)Dentin adhesion and MMPs: a comprehensive review. *J Esthet Restor Dent.*; 25(4):219-41.
- Ramos G, Calvo N, Fierro R.** (2015) Adhesión convencional en dentina, dificultades y avances en la técnica. *Rev Fac Odontol Univ Antioquía* [internet]; 26(2): 468-86. Disponible en: <http://aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/odont/article/view/17146>
- Song SE, Choi BK, Kim SN, Yoo YJ, Kim MM, Park SK, Roh SS, Kim CK.** (2003) Inhibitory effect of pro-cyanidin oligomer from elm cortex on the matrix metalloproteinases and proteases of periodontopathogens. *J Periodontal Res.*; 38(3):282-89.
- Walter R, Miguez PA, Arnold RR, Pereira PN, Duarte WR, Yamauchi M.** (2008) Effects of natural cross-linkers on the stability of dentin collagen and the inhibition of root caries in vitro. *Caries Res.*; 42(4):263-68.

Joanna Vola
j.vola@hotmail.com