

FACULDADE SETE LAGOAS

MARINA DAMASCENO E SOUZA DE CARVALHO CHIARI

Remineralização biomimética e materiais bioativos em dentística restauradora

São Paulo

2021

MARINA DAMASCENO E SOUZA DE CARVALHO CHIARI

**Remineralização biomimética e materiais bioativos em dentística restauradora
Versão Original**

Monografia apresentada no curso de Especialização *Lato Sensu* Faculdade Sete Lagoas, como requisito parcial para a conclusão do curso de Dentística Restauradora.

Orientador: Prof. José Carlos Garófalo

São Paulo

2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Faculdade Sete Lagoas

Chiari, Marina Damasceno e Souza de Carvalho.
Remineralização biomimética e materiais bioativos em dentística restauradora / Marina Damasceno e Souza de Carvalho Chiari. – 2021.
Orientador José Carlos Garófalo
40 p. ; il. ; 30 cm.
Monografia (especialização) -- Faculdade Sete Lagoas, 2021.
1. Remineralização Dentária. 2. Materiais Dentários. 3. Materiais Biomiméticos.
I. Título.
II. José Carlos Garófalo.

FACULDADE SETE LAGOAS

Monografia intitulada "Remineralização biomimética e materiais bioativos em dentística restauradora" de autoria da aluna Marina Damasceno e Souza de Carvalho Chiari, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof. José Carlos Garófalo - Orientador

Prof.(a) Dr.(a)

Prof.(a) Dr.(a)

São Paulo, 11 de maio de 2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, por caminhar sempre ao meu lado, me proteger e se fazer presente em todos os momentos da minha vida. Por nunca ter me faltado, mesmo quando eu não o percebia. Por ter colocado pessoas maravilhosas em meu caminho que, sem dúvida, ajudaram na minha formação.

Agradeço de modo carinhoso e especial à minha família, aos meus pais **Norma** e **Fernando** pelo apoio e amor incondicional. Por terem me “segurado no colo” sempre que precisei. Por valorizarem a educação e por me darem a oportunidade de chegar até aqui. Admiro a história de vida que vocês carregam e espero que um dia eu possa olhar para trás e me orgulhar de ter sido um pouco do que vocês são pra mim, hoje. Ao meu pai, aproveito para agradecer também por ser meu primeiro paciente na Especialização. Obrigada por ter confiado em mãos tão inexperientes, espero que tenha ficado satisfeito com seu novo sorriso. Agradeço meu irmão **Fernando**, por dividir comigo as risadas e os choros. Por ser meu melhor amigo e por cuidar de mim de uma maneira que nenhuma outra pessoa seria capaz. Nossa sintonia é inexplicável e você é essencial para que eu possa seguir em frente. Muito obrigada.

Ao **José Thomé**, meu marido, pelo amor, torcida, cumplicidade e paciência. Quando comecei o curso éramos noivos e terminamos casados. Agradeço por compartilhar meus medos, minhas alegrias e por se orgulhar a cada conquista minha. Você é a presença mais importante, permanente, meu companheiro compreensivo. Mesmo quando ninguém vê. Obrigada por atravessar a tempestade comigo.

Agradeço aos amigos que o mundo da Odontologia Restauradora me deu: **Ana Cecília Aranha, Annabelle Nahas, Brunna Muraro, Cristiano Baietero, Daniela Cunha, Eduardo Suzuki, Fernando Frascino, Gabriela Mizuno, Glaucia Giacon, Jair Leão, Letícia Sakae, Livia Pagotto, Livia Trevelin, Louise Bignardi, Maria Carlota Vilaça, Michelle Cascini, Mayra Quitero, Paola Zanella, Paula Louback, Raíssa de Vita, Sandra Cunha e Victor Tundisi**. Obrigada pelos anos de convivência, amizade e aprendizado.

Agradeço aos professores do curso: **Alexandre Vieira, Aljomar Vechiato, Gustavo Escudeiro, João Francisco Pinheiro Jr., Leonardo Buso, Ivany Kabbach, Elem Ártico**. Tive o prazer de tê-los como mestres durante a especialização. Agradeço por terem me mostrado com olhos tão apaixonados o

mundo da Dentística Restauradora. Obrigada pelas conversas, orientações, condução dos casos clínicos e pelos ensinamentos que estarão para sempre na minha memória. Agradeço também aos assistentes **Rafael Nunes** e **Ariel Ramos** que foram essenciais durante todas as clínicas. Obrigada pelas dicas, ajudas e pela disposição de sempre.

Agradeço, em especial, ao coordenador do curso **Prof. Ms. José Carlos Garófalo**. Até hoje me recordo quando escrevi o e-mail perguntando sobre possibilidade de fazer a prova de seleção em outra data. Eu estava em outro país, em vias de terminar um mestrado e sem nem saber que rumo minha vida ia seguir. Acho que esse e-mail foi um dos meus maiores acertos na vida. Mestre, obrigada por conduzir nosso curso com excelência, por maiores que fossem as adversidades. E foram muitas, mas você nunca deixou a peteca cair. Obrigada por me ensinar a prática, sem nunca esquecer das raízes acadêmicas que são tão presentes em mim. Obrigada por demonstrar, inúmeras vezes, que ética e caráter profissional vão contra os modismos e as vezes é necessário remar contra a maré. Obrigada por me fazer enxergar outra Odontologia, por ter me dado a oportunidade de ministrar uma aula com um assunto “não convencional” e por permitir que eu concluísse meus casos mesmo após o término da especialização. Você é um exemplo de dedicação tanto a vida clínica quanto acadêmica, com incansável vontade de estudar, aprender e reaprender, com quem eu aprendi lições para levar para toda vida. Muito obrigada!

RESUMO

Um dos principais requisitos para longevidade de restaurações adesivas é uma união efetiva e duradoura aos tecidos dentais, especialmente a dentina. Sendo assim, a remineralização da interface adesiva e da dentina desmineralizada é um fator importante para melhorar a estabilidade da união dentinária. No entanto, os sistemas adesivos atuais não são capazes de infiltrar totalmente a dentina desmineralizada, deixando espaços nanométricos preenchidos por água entre a malha colágena desmineralizada e desprotegida. Esse colágeno está exposto a degradação hidrolítica e enzimática, essa última promovida por metaloproteínases de matriz (MMPs) e cisteína catepsinas. A remineralização biomimética representa uma nova abordagem, objetivando a remineralização dentinária e proteção do colágeno desmineralizado, através da utilização de partículas bioativas estabilizadas por análogos biomiméticos de proteínas não-colágenas. Assim, o objetivo deste trabalho é revisar a literatura sobre remineralização biomimética e materiais bioativos no intuito de compreender essa abordagem e correlacionar com sua aplicabilidade clínica.

Palavras-chave: Remineralização Dentária. Materiais Dentários. Materiais Biomiméticos.

ABSTRACT

One of the main requirements adhesive restorations longevity is an effective and long-lasting bond to dental tissues, especially dentin. Therefore, adhesive interface and demineralized dentin remineralization is an important factor to improve dentin bond stability. However, current adhesive systems are not able to fully infiltrate the demineralized dentin, leaving nanometric spaces filled with water between the demineralized and unprotected collagen matrix. This collagen is exposed to hydrolytic and enzymatic degradation, the latter promoted by matrix metalloproteinases (MMPs) and cysteine cathepsins. Biomimetic remineralization represents a new approach, aiming dentin remineralization and collagen protection, through the use of bioactive particles stabilized by biomimetic analogues of non-collagen proteins. Thus, the objective of this study is to review the literature on biomimetic remineralization and bioactive materials aiming to understand this approach and correlate it with its clinical applicability.

Keywords: Tooth Remineralization. Dental Materials. Biomimetic Materials.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 3.1 - Estrutura esquemática das MMPs: (A) Estrutura básica das MMPs (B) Estrutura diferenciada da MMP-2 e MMP-9 com a presença de domínios de fibronectina (C) Estrutura da forma inativa das MMPs e (D) forma ativa após clivagem do pró-domínio e liberação do domínio catalítico (ativo).....pág. 17

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.2 - Abordagens utilizando análogos biomiméticos para remineralização dentinária.....pág. 26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	porcentagem
μ CT	microtomografia computadorizada
μ m	micrômetro
ACP	fosfato de cálcio amorfo
BAG	vidros bioativos
BAG 45S5	biovidro original
β -TCP	beta fosfato tricálcico
Ca^{2+}	cátion cálcio (íon)
CaP	fosfato de cálcio
CaP-MMP	complexo ortofosfato de cálcio – metaloproteinases de matriz
DCPA	fosfato dicálcico anidro
DCPD	fosfato dicálcico dihidratado
DMP-1	proteína de matriz dentinária 1
FCS	fluido corpóreo simulado
h	horas
H^+	cátion hidrogênio/hídron
HA	hidroxiapatita
MTA	agregado trióxido mineral
MET	microscópio eletrônico de transmissão
MEV	microscópio eletrônico de varredura
MMPs	metaloproteinases de matriz
MRT	microradiografia transversal
NACP	nanopartículas de fosfato de cálcio amorfo
nm	nanômetros
O^{2-}	ânion oxigênio (íon)
OH^-	hidroxila
P^{5+}	cátion fósforo (íon)
pAsp	ácido poli(aspártico)
PAMAM	poliamidoamina
PILP	polymer-induced liquid-precursor

pH	potencial de hidrogênio
PO_4^{3-}	ânion fosfato (íon)
Si^{4+}	cátion sílicio (íon)
SiO_4	ânion ortosilicato
TCP	fosfato tricálcico
TTCP	fosfato tetracálcico
ZnO	óxido de zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	pág. 13
2	PROPOSIÇÃO	pág. 15
3	REVISÃO DE LITERATURA	pág. 16
3.1	VIAS DE DEGRADAÇÃO DA CAMADA HÍBRIDA.....	pág. 16
3.2	ALTERNATIVAS PARA PROMOÇÃO DE ESTABILIDADE DA INTERFACE ADESIVA A PARTIR DA UTILIZAÇÃO DE PARTÍCULAS LIBERADORAS DE ÍONS E REMINERALIZAÇÃO BIOMIMÉTICA REMINERALIZAÇÃO.....	pág. 18
3.2.1	Estratégias envolvendo remineralização e uso de partículas bioativas.....	pág. 18
3.2.2	Estratégias envolvendo remineralização funcional ou biomimética.....	pág. 23
4	DISCUSSÃO	pág. 27
5	CONCLUSÃO	pág. 32
6	REFERÊNCIAS	pág. 33

1 INTRODUÇÃO

Os processos de desmineralização e remineralização das estruturas dentais coexistem durante toda a vida de um indivíduo, sendo que em condições patológicas, a desmineralização supera a remineralização (1). Com a progressão da lesão cariosa em direção a dentina ocorre a ativação de metaloproteinases de matriz (MMPs) e cisteína catepsinas que degradarão as fibrilas colágenas, diminuindo as propriedades mecânicas da dentina. Essas colagenases também são ativadas através do condicionamento da dentina durante o protocolo adesivo (com ácido fosfórico ou monômeros ácidos provenientes de adesivos autocondicionantes) (2). Entretanto, os monômeros presentes nos sistemas adesivos contemporâneos são incapazes de infiltrar completamente a malha colágena desmineralizada (3, 4), resultando em espaços preenchidos por água ao longo das fibrilas colágenas desprotegidas, levando aos fenômenos conhecidos como nanoinfiltração e micropermeabilidade dentro das camadas híbridas (5, 6). A combinação entre atividade colagenolítica, somada a hidrólise do componente resinoso do sistema adesivo e desafios externos como variações de temperatura, ação ácidos bacterianos e tensões mecânicas provocam o comprometimento da integridade da interface adesiva a longo prazo (7, 8).

Uma das alternativas estudadas para reduzir esses gaps na malha colágena é a remineralização da interface adesiva, promovida pela precipitação de apatita. Dessa forma é possível promover tanto um aumento nas propriedades mecânicas da interface quanto a proteção do colágeno exposto (9-13). A via clássica de remineralização dentinária, também conhecida como remineralização “top-down”, é dependente do conteúdo mineral remanescente do tecido (14). Nessa situação, encontram-se em uma dentina cariada parcialmente desmineralizada, cristais de apatita deixados nas regiões intra-fibrilares. Esses cristais atuam como sítios de nucleação para a precipitação de íons como cálcio (Ca^{2+}) e fosfato (PO_4^{3-}), que será seguida por um crescimento epitaxial do cristal (14,15). Considerando essa abordagem, diferentes estratégias têm sido empregadas para remineralizar a dentina desmineralizada como por exemplo, a tecnologia GIOMER, resinas com liberação de flúor ou materiais resinosos contendo ortofosfatos (CaP) ou silicatos de cálcio ou vidro bioativo (15-19). No entanto, na ausência desses cristais de nucleação, como no caso de uma dentina completamente desmineralizada por ácido fosfórico ou a parte superficial de uma dentina afetada, essa abordagem não se aplica (20, 21).

A remineralização biomimética, também conhecida como remineralização funcional, não clássica ou “bottom-up”, representa uma abordagem diferente para este problema, na qual, partículas nanoprecursoras apatita são estabilizadas por análogos biomiméticos de proteínas não-colágenas e conduzidas para dentro da malha colágena (22-24). Por meio dessa estratégia camadas híbridas criadas por sistemas adesivos de condicionamento total ou alto condicionantes, bem como 250-300 μm de espessura completamente desmineralizados em dentina afetada por cárie, podem ser remineralizadas (25, 26). Esta estratégia pode ser considerada como um mecanismo viável e promissor para estender a longevidade da interface adesiva (27) restaurando inclusive as propriedades mecânicas da dentina e do colágeno previamente desmineralizado, chegando a apresentar valores semelhantes a uma dentina sadia (28).

2 PROPOSIÇÃO

Como base no exposto, o presente estudo teve como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre os tipos de remineralização dentinária testados atualmente, com ênfase na abordagem biomimética, associando-a aos materiais bioativos e correlacionando essa estratégia com suas limitações e aplicabilidades clínicas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1. VIAS DE DEGRADAÇÃO DA CAMADA HÍBRIDA

Dois mecanismos principais são responsáveis pela degradação da camada híbrida:

1. Degradação enzimática da matriz colágena ocasionada pela ativação de metaloproteinases de matriz (MMPs) e cisteína catepsinas

As MMPs e cisteínas catepsinas são divididas em classes correspondentes ao seu mecanismo colagenolítico. Ambas as enzimas são sintetizadas e secretadas nas suas formas inativas, também denominadas de proenzimas ou zimógenos (29). Dentre elas, as MMPs são mais estudadas, sendo subdivididas em seis grupos conforme sua estrutura e substrato de interação. Em Odontologia, as MMPs de interesse são divididas em colagenases (MMP-1, MMP-8, MMP-13 e MMP-18) e gelatinases (MMP-2 e MMP-9). Estruturalmente, as MMPs (Figura 3.1A) possuem um domínio catalítico responsável pela degradação do colágeno. Domínios de fibronectina tipo II interligados ao sítio catalítico são observados em duas proteases intrínsecas da matriz colágena (MMP-2 e MMP-9), sendo essa parte da estrutura responsável pela mediação com o colágeno (Figura 3.1B). O pró-domínio auto-inibitório contém resíduos de cisteína e apresenta-se conectado ao sítio catalítico por meio de uma ligação mediada com íon zinco (Figura 3.1B). A desmineralização do tecido dentinário, promovida por ácidos bacterianos ou provenientes do procedimento adesivo, remove o pró-domínio da estrutura e rompimento da sua ligação com íon zinco, alterando sua estrutura conformacionalmente (Figura 3.1C e 3.1D). Assim, o sítio ativo da enzima torna-se disponível para degradar os substratos. Apesar do rompimento da ligação entre os íons zinco com o pró-domínio, a ligação iônica se mantém presente com domínio catalítico, sendo essa condição essencial para que a função colagenolítica seja exercida (Figura 3.1D). Por isso, as MMPs são consideradas enzimas zinco dependentes.

Geralmente, a degradação se inicia na porção mais profunda da camada híbrida, não infiltrada pelos monômeros resinosos, progredindo para as regiões

mais superficiais da dentina ligada ao adesivo, o que aumenta as porosidades na camada híbrida (30, 31). Atualmente, existem evidências que tanto os sistemas adesivos de condicionamento ácido total quanto adesivos autocondicionantes são capazes de promover a ativação de MMP-2 e MMP-9 (29, 32), entretanto, por não causar uma desmineralização completa do substrato e manter parte do esfarelamento dentinário, a degradação apresentada pelos autocondicionantes é de menor intensidade (33).

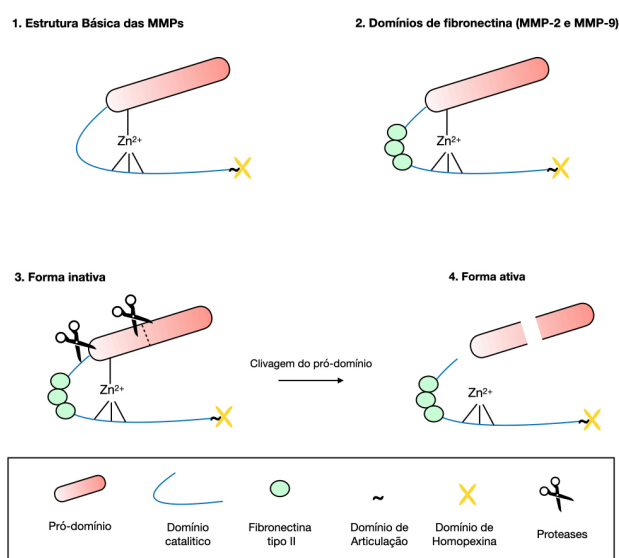


Figura 3.1- Estrutura esquemática das MMPs: (A) Estrutura básica das MMPs (B) Estrutura diferenciada da MMP-2 e MMP-9 com a presença de domínios de fibronectina (C) Estrutura da forma inativa das MMPs e (D) forma ativa após clivagem do pró-domínio e liberação do domínio catalítico (ativo).

2. Degradação hidrolítica da matriz resinosa

A presença de água residual excessiva, decorrente da infiltração monomérica deficiente por entre as fibrilas colágenas desprotegidas, pode causar separação de fases dos componentes do sistema adesivo (34) reduzindo as propriedades mecânicas e longevidade da interface adesiva (35, 36). A hidrólise da matriz orgânica polimérica se relaciona à sorção de água inerente aos polímeros sintéticos e é responsável pela pastificação das cadeias poliméricas. A degradação das ligações tipo éster da rede polimérica também pode ocorrer via enzimática, através das esterases presentes nos fluidos corporais, como por exemplo saliva e fluido intratubular (37, 38). A liberação

dos produtos de degradação reduz as propriedades mecânicas da interface adesiva e provoca maior absorção de água e plasticização da matriz resinosa (35, 38, 39).

3.2. ALTERNATIVAS PARA PROMOÇÃO DE ESTABILIDADE DA INTERFACE ADESIVA A PARTIR DA UTILIZAÇÃO DE PARTÍCULAS LIBERADORAS DE ÍONS E REMINERALIZAÇÃO BIOMIMÉTICA

Infelizmente, nenhum dos sistemas adesivos comerciais possui capacidade de remineralizar a interface adesiva ou inibir/fossilizar as proteases. O uso de partículas bioativas, diferentes pré-tratamentos dentinários ou utilização de análogos biomiméticos são estratégias promissoras que visam a promoção de remineralização dentinária. Entretanto, essas alternativas ainda estão em fase de estudo e precisam de maiores comprovações laboratoriais e clínicas, porém foram idealizadas com o intuito de promover melhor estabilidade da interface adesiva contra degradação hidrolítica e enzimática. Dentre elas se destacam:

3.2.1 Estratégias envolvendo remineralização e uso de partículas bioativas

O conceito de remineralização atual remete ao ganho mineral decorrente da deposição de íons Ca^{2+} e PO_4^{-3} que provém de uma fonte externa e são fornecidos à estrutura dental (40). Diferentemente da remineralização em esmalte, a remineralização da estrutura dentinária ainda é desafiadora. Pelo fato de ser estruturalmente heterogênea e complexa, a deposição mineral deve ser direcionada e guiada para os espaços intra e inter-fibrilares da malha colágena (41, 42). Apesar do desenvolvimento de novos sistemas adesivos ter ocorrido rapidamente, pouca atenção foi dada aos materiais bioativos, também referidos como “materiais inteligentes”. Essa classe de materiais possui em sua composição partículas capazes de liberar íons como Ca^{2+} e PO_4^{-3} . De forma geral, essas partículas podem ser divididas em três grandes grupos: os vidros bioativos (17, 43, 44), ortofosfatos (CaP) ou silicatos de cálcio (45-47). Os íons liberados pelas partículas bioativas são capazes de promover a precipitação de apatita por entre os tecidos dentais desmineralizados, induzindo a

remineralização (48, 49). Além disso, as partículas bioativas podem formar complexos com as MMPs, como por exemplo o complexo CaP-MMP. As Esses complexos apresentam alto peso molecular o que promove a imobilização das collagenases protegendo as fibrilas colágenas contra a degradação enzimática (50).

O pioneirismo na utilização de vidros bioativos (BAG) foi iniciado em 1960, através da criação do biovidro original (Bioglass® 45S5 ou BAG 45S5) por Larry Hench (51). A princípio, seu desenvolvimento veio no campo da regeneração óssea devido a sua interação química rápida e durável com esse tecido. Em dentística restauradora, a maioria dos estudos avalia a longevidade da interface adesiva infiltrada com sistemas adesivos contendo essas partículas. Dentre os vidros mais estudados estão o biovidro original (48, 52), os dopados com íons metálicos como cobre (53), fluoreto (43) e zinco (17) ou tratados com ácido poliacrílico (54). Amostras de dentina desmineralizada infiltradas com um adesivo experimental contendo BAG 45S5 apresentaram menor degradação enzimática em relação ao material controle (sem partículas) após quatro semanas de armazenamento em saliva artificial (48). Além da inibição enzimática, adesivos experimentais contendo BAG 45S5 ou dopados com zinco policarboxilado apresentaram aumento significativo das propriedades mecânicas (nanoelasticidade e nanodureza), reduções na micro-permeabilidade e formação de mineral na interface adesiva após armazenamento de três meses em fluido corporal simulado (FCS), resultados não apresentados pelo adesivo controle (sem partículas) (17).

Em Odontologia, as partículas de silicato de cálcio tiveram seus primeiros usos na área endodôntica. Quimicamente, os silicatos possuem uma unidade fundamental, o tetraedro SiO_4 , onde cada cátion silício (Si^{4+}) liga-se covalentemente, através de um compartilhamento de elétrons, a quatro ânions oxigênio (O^{2-}) situados nos vértices do tetraedro. Nos silicatos de cálcio, somado a estrutura são incorporados íons Ca^{2+} , responsáveis por alterar química e estruturalmente o tetraedro original. Comercialmente existem dois materiais constituídos por silicatos de cálcio sendo eles: cimento de Portland/Portlandita e o agregado trióxido mineral (MTA). O cimento de Portland foi patenteado em 1824 por J. Aspidin, na época utilizado como

cimento hidráulico. Sua composição inclui uma mistura de fases de silicato de dicálcico e tricálcio (Belita/ Ca_2SiO_4 e Alita/ Ca_3SiO_5 , respectivamente) associada a aluminato tricálcico ($\text{Ca}_3\text{Al}_2\text{O}_4$) e ferro aluminato tetracálcico ($\text{Ca}_4\text{Al}_2\text{Fe}_3\text{O}_{10}$). Outro material utilizado como tratamento para perfurações radiculares é o MTA, constituído majoritariamente por cimento de Portland, associado a óxido de bismuto (Bi_2O_3) e gipsita ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). A bioatividade dessas partículas está vinculada a liberação de Ca^{2+} e hidroxilas (OH^-), que promovem a formação de um ambiente alcalino e favorável para a remineralização de tecidos duros como esmalte e dentina (46, 55, 56). Além disso, a elevação do pH local favorece a precipitação mineral em um período curto de indução (57), inibe a atividade das MMPs e funciona como atividade antimicrobiana (46). Assim como os biovidros, essas partículas foram adicionadas a adesivos experimentais. Amostras de dentina infiltradas por adesivos experimentais contendo de partículas de cimento Portland modificadas foram capazes de, após seis meses de armazenamento em fluido corpóreo simulado, manter os valores de resistência à microtração, apresentar deposição mineral e menor nanoinfiltração (58). Os silicatos de cálcio também são comumente modificados. Partículas derivadas de silicato de cálcio modificadas por β -TCP (beta fosfato tricálcico) ou por β -TCP, óxido de zinco (ZnO) e ácido poliacrílico quando incorporadas em adesivos, foram capazes de promover um aumento no módulo de elasticidade da interface adesiva após envelhecimento, sugerindo remineralização (18). Essas partículas também podem ser utilizadas na forma de suspensões aplicadas diretamente à superfície dentinária desmineralizada, como *primers*. A utilização de um *primer* contendo partículas de MTA promoveu maior manutenção da integridade da parede gengival de terceiros molares humanos *in situ*. Além disso, a presença de apatita no interior dos túbulos dentinários foi identificada para os grupos tratados com a suspensão de MTA, sugerindo remineralização e menor micropermeabilidade (45). A capacidade de reduzir a degradação colágena também foi apresentada por adesivos experimentais formulados com partículas de cimento de Portland modificadas com β -TCP e ZnO após quatro semanas de armazenamento em saliva artificial (59).

Os CaP são os principais constituintes da fase mineral dos tecidos duros (ossos e dentes) e devido sua biocompatibilidade apresentam grande interesse em odontologia e medicina (60-62). Como os silicatos, essas partículas se apresentam em diferentes fases, todas quimicamente constituídas por três elementos principais: Ca^{2+} , P^{5+} (fósforo em estado de oxidação +5) e O^{2-} . A hidroxiapatita (HA) é um dos ortofosfatos de cálcio mais estudados em odontologia pelo fato de ser o principal constituinte da fase inorgânica do esmalte dentário (63). Entretanto a HA é o ortofosfato de cálcio mais estável em meio aquoso, ou seja, com menor solubilidade (64). Outras fases de CaP, com maior solubilidade, são estudadas com o objetivo de desenvolver de materiais restauradores com ação remineralizante. O fosfato de cálcio amorfo (ACP) é uma das fases mais estudadas e incorporada em compósitos experimentais e sistemas adesivos (65-69). Comercialmente podemos encontrar ACP em produtos como: cimentos ortodônticos (Aegis Ortho, Bosworth Co), selantes resinosos (Aegis Pit & Fissure with ACP, Bosworth Co, Skokie, IL, USA), compósitos restauradores (Aegis V, Bosworth Co), agentes clareadores (Philips Zoom DayWhite e NiteWhite, Philips, Amsterdã, NDL) e dentifrícios (ACP Enamelon, Enamelon Inc., Cranbury, NJ). Experimentalmente, quando incorporado à um sistema adesivo autocondicionante e aplicado sobre dentina desmineralizada, o nanopartículas de ACP (NACP) foram capazes de promover remineralização nas partes mais profundas da camada híbrida (70).

Outras fases de CaP também são incorporadas a materiais resinosos como por exemplo o fosfato de cálcio anidro (DCPA) (71, 72), fosfato dicálcico dihidratado (DCPD) (73-79), fosfato tetracálcico (TTCP) (80) e fosfato tri-cálcico (TCP e suas variações α e β) (81). O DCPD e o β -TCP também foram testados em adesivos experimentais associados ou não com silicatos de cálcio (18, 59, 73, 82). Na literatura é possível encontrar estudos *in vitro*, *in situ* e *in vivo* avaliando a remineralização dos tecidos dentários com a utilização de materiais contendo partículas de CaP. Um estudo *in vitro* demonstrou, após seis semanas de armazenamento em saliva artificial e através de avaliação microrradiográfica, aumentos da ordem de 38 a 47% conteúdo de mineral em lesões artificiais em dentes humanos restauradas com cimentos resinosos

contendo partículas de TTCP e DCPA (cimento I: 18% em massa de TTCP e 55% em massa de DCPA; cimento II: 20% em massa de TTCP e 60% em massa de DCPA) (83). Entretanto, quando essa mesma dentina é infiltrada com sistema adesivo e posteriormente é restaurada com esses cimentos a porcentagem de remineralização é reduzida a menos da metade (23% a 13%, para os cimentos I e II respectivamente) (84).

A recuperação do conteúdo mineral envolvendo materiais resinosos contendo partículas de ortofosfato de cálcio também foi avaliada em um estudo *in vivo*. Nesse estudo, um cimento resinoso contendo 29,1% de DCPA e 36,8% de TTCP (porcentagens em massa) foi aplicado sobre dentina afetada por cárie (após remoção seletiva da dentina infectada) em dentes que estavam programados para extração. Após três meses, os dentes foram extraídos e foi identificada recuperação do conteúdo mineral a nível de dentina sadia para a dentina restaurada com o cimento contendo partículas. Os conteúdos de cálcio e fósforo identificados nessas amostras foram estatisticamente superiores ao registrado para o controle negativo (sem a aplicação do cimento) (85).

Apesar dos resultados promissores relatados na literatura em relação a remineralização dentinária, esses materiais tendem a possuir reduções acentuadas das propriedades mecânicas, não sendo consideradas como partículas de carga. Isso decorre da ausência de interação química e micromecânica do CaP com a matriz orgânica resinosa, o que impede uma distribuição efetiva das tensões geradas no material. Conseqüentemente, a baixa resistência coesiva culmina em uma concentração de tensões que levam ao surgimento de trincas e fratura do material (65, 74). A falta de união entre a matriz e as partículas de CaP originam um maior trânsito de fluídos no interior do material, o que contribui para a maior degradação hidrolítica e plasticização da matriz polimérica. Por fim, a liberação iônica gera uma dissolução da superfície das partículas, associando-se ao processo degradativo desses materiais (78). Uma das alternativas para aumentar interação química entre as partículas de CaP com a matriz orgânica são as modificações de superfície. Dentre elas, a funcionalização das partículas de CaP é realizada misturando-as ao composto a ser adsorvido na superfície, como acontece na silanização,

e se provou ser efetiva melhorando a interação química entre as fases sem comprometer a liberação de íons (76, 78, 86, 87).

3.2.2 Estratégias envolvendo remineralização funcional ou biomimética

Microradiografias transversais (MRT) ou análises radiográficas clínicas são métodos semi-quantitativos para avaliação da remineralização, entretanto não comprovam a recuperação das propriedades mecânicas da dentina (22, 88). Clinicamente, a formação de um tecido “endurecido” é observada meses após o selamento de lesões cariosas, sendo possível inferir que existe uma remineralização dentinária fisiológica. Todavia, a microdureza e o módulo de elasticidade dessa dentina remineralizada fisiologicamente *in vivo* apresentam valores inferiores aos da dentina sadia (89, 90). Dessa forma, outras estratégias foram estudadas com o objetivo de remineralizar efetivamente a dentina, preenchendo os espaços vazios por entre a malha colágena e promovendo a proteção das fibrilas contra ação de proteinases. Dentre elas, a “remineralização funcional”, “biomimética” ou “bottom-up” preconiza a utilização de materiais e processos que capazes de auxiliar a remineralização fisiológica ordenando o crescimento de cristais de apatita nos espaços intra-fibrilares (zonas de gap) do colágeno, característica necessária para que a dentina recupere suas características mecânicas (88).

A teoria clássica de remineralização (remineralização “top-down”), descrita em 1981, se vale da presença de cristalitos remanescentes de HA na região intra-fibrilar da dentina parcialmente desmineralizada, que atuam como sítios de nucleação e, em conjunto com proteínas não-colágenas (como por exemplo a proteína de matriz dentinária1/DMP-1), são responsáveis pelo direcionamento e precipitação dos íons, promovendo o crescimento epitaxial dos cristais (91). Entretanto, na dentina totalmente desmineralizada (pós condicionamento ácido, por exemplo), não existem sítios precursores de nucleação. Sendo assim, para ocorrer precipitação de apatita na região intra-fibrilar do colágeno é necessário que precursores minerais nanométricos amorfos que são análogos de proteínas não-colágenas (análogos biomiméticos), se depositem de forma orientada nestas regiões. Esses precursores se organizam em mesocristais e, progressivamente, se

transformam em placas cristalinas maiores ao longo das fibras promovendo então a remineralização (20, 22).

Na literatura três abordagens são bem elucidadas (Tabela 3.2), todas utilizam como análogos biomiméticos macromoléculas aniônicas que objetivam direcionar a precipitação de apatita para a malha colágena. Para isso, a fonte de íons cálcio e fosfato deve estar ou em solução (meio de imersão/armazenamento) ou ser proveniente de partículas bioativas. Gower e Odom descreveram o primeiro processo, que recebeu como nome o acrônimo PILP, proveniente do termo “polymer-induced liquid-precursor” (92, 93). Nesse processo, o polietrólito ácido poli(aspártico)(pAsp) é utilizado como análogo e adicionado a uma solução remineralizante. A função do pAsp em solução foi de sequestrar dos íons cálcio e fosfato do meio, o que retardou a nucleação e originou uma solução metaestável ou “precursor líquido”. Posteriormente, foi observado que esta solução sofreu separação de fases formando gotículas nanométricas amorfas (15 – 30 nm) que penetraram por capilaridade nos espaços intra-fibrilares do colágeno bovino, onde coalesceram e mudaram de fase amorfa para fase cristalina (94).

Alguns anos mais tarde, o processo PILP foi aplicado à remineralização de lesões artificiais em dentina com 140 µm de profundidade. Como resultado, após 14 e 28 dias de armazenamento, a metade externa recuperou em torno de 50% de seu módulo de elasticidade e a metade mais profunda das lesões recuperou totalmente seu módulo de elasticidade, chegando a valores semelhantes ao da dentina hígida (95, 96). Outro estudo demonstrou que após 14 dias de armazenamento, uma dentina desmineralizada imersa em solução remineralizante contendo PILP recuperou 49-60% do módulo de elasticidade de uma dentina hígida, enquanto na ausência do análogo a recuperação foi de 11-14% (97). Um resultado semelhante foi observado recentemente, ao comparar os efeitos de um cimento de ionômero de vidro contendo pAsp (20% ou 40% em peso) ou a aplicação de uma solução PILP como *primer* sobre dentina desmineralizada. Após 14 dias de armazenamento em fluido corpóreo simulado, os melhores resultados foram observados no grupo tratado com a solução PILP, sugerindo que a remineralização foi proveniente da aplicação do

pAsp. Entretanto, a eficácia do ionômero de vidro na remineralização dentinária foi mínima na ausência de pAsp (98).

Outros estudos utilizam uma combinação de dois polietrólitos: um deles responsável pelo sequestro dos íons e formação de nano-aglomerados amorfos de cálcio e fosfato e o segundo responsável por atraí-los para as zonas de gap do colágeno. A associação entre o ácido poliacrílico e ácido polivinilsulfônico como análogos em solução e a utilização de MTA como fonte de íons foram capazes de promover remineralização intra e inter-fibrilar em dentina desmineralizada após duas a oito semanas de imersão (22). Outros estudos utilizaram ácido poliacrílico e trimetafosfato de sódio misturados a cimentos de silicato de cálcio e aplicados sobre dentina desmineralizada e relataram, após seis semanas de armazenamento, maior recuperação do conteúdo mineral do que o observado apenas com o cimento (26).

Por fim, o poli(amido amina)/PAMAM é um polímero altamente ramificado. Em sua estrutura está presente um alto número de grupos carboxílicos terminais reativos que se ligam às zonas de gap do colágeno e são responsáveis por atrair e direcionar a cristalização dos nanoprecusores amorfos do meio de imersão (99). Esse processo é semelhante ao PILP, sendo diferente apenas na forma de recrutamento de íons para o interior das fibras colágenas. Uma dentina desmineralizada tratada com solução de PAMAM e restaurada com um compósito experimental contendo 40% em peso de NACP apresentou deposição mineral e valores de microdureza em níveis semelhantes ao da dentina sadia após 21 dias de armazenamento em solução salina (100).

Tabela 3.2- Abordagens utilizando análogos biomiméticos para remineralização dentinária.

Métodos	Análogos biomiméticos	Meio de imersão	Fonte de íons	Referências
PILP	Ácido poli-L-aspártico	Tris + Cloreto de cálcio (CaCl ₂) + fosfato de potássio (K ₂ PO ₄) + análogo em solução	Própria solução	(95, 101, 102)
	Ácidos poliacrílico e polivinilfosfônico	Análogos em solução contendo íons fosfato	MTA	(22, 23)
Dois componentes	Trimetafosfato e ácido poli(aspártico)	Saliva artificial	Compósito contendo 40% de partículas de cimento Portland + β-TCP	(103)
	Ácido poliacrílico e trimetafosfato de sódio	Fluído corpóreo simulado	Análogos biomiméticos associados ao MTA	(104)
PAMAM	poli(amido amina) com grupos carboxílicos	Saliva artificial (23h) + ácido láctico (1h)	Compósito contendo 40% de ACP	(105)
		Tampão fosfato		(106)

4 DISCUSSÃO

A dentina apresenta uma estrutura complexa e heterogênea, sendo um desafio sua efetiva remineralização (42). As propriedades de sustentação dentinária derivam em grande parte da mineralização intra-fibrilar (107), ou seja, é necessário que a apatita na dentina esteja ligada à matriz colágena ou, idealmente, incorporada às fibrilas de colágenas, reforçando mecanicamente o tecido (108). Dessa forma, é importante direcionar a deposição de íons dentro das fibrilas colágenas, remineralizando e restaurando a funcionalidade do tecido (14, 95, 109, 110).

A capacidade de um material remineralizar a dentina não reside somente na recuperação do conteúdo mineral, mas também na recuperação de suas propriedades físicas, mecânicas e estruturais, como o módulo de elasticidade, dureza e resistência (29). Portanto, é fundamental avaliar a dentina remineralizada através de método de imagem de alta resolução, por exemplo, microscopia eletrônica de transmissão (MET) ou varredura (MEV) e por testes mecânicos de rigidez, dureza e resistência, a fim de determinar se a remineralização foi bem-sucedida e, de fato, funcional. Entretanto, a grande maioria dos estudos de remineralização publicados na literatura não fornecem a análise funcional, baseando-se somente em avaliações do conteúdo mineral através de por raios-X odontológicos, microradiografia transversal (MRT) ou micro tomografia computadorizada (μ CT) (42, 111). Os resultados apresentados nesses estudos não fornecem informações relevantes sobre a propriedades mecânicas, não permitindo inferir a efetividade do tratamento avaliado. Estudos mais recentes, utilizam ensaios mecânicos de nanoindentação para avaliar as propriedades mecânicas da camada adesivo-dentinária, através da obtenção do módulo de elasticidade e a nanodureza em diferentes profundidades da interface. Por se tratar de um teste não destrutivo, o mesmo corpo de prova pode ser avaliado após diferentes períodos de imersão.

A utilização de diferentes tipos de partículas liberadoras de íons incorporadas à materiais restauradores é uma das alternativas para promoção de maior longevidade na interface adesiva. Isso decorre de dois fatores: a

remineralização camada híbrida e dentina desmineralizada subjacente e a consequente inativação de enzimas colagenolíticas. Resultados mecânicos favoráveis foram obtidos quando partículas bioativas são associadas à sistemas adesivos, sugerindo remineralização funcional. Após três meses em FCS, adesivos experimentais contendo 40% em massa de biovidro (original ou modificado) ou 33% em massa de partículas de silicato de cálcio modificadas com β -TCP foram capazes de aumentar o módulo de elasticidade da camada híbrida, porém o adesivo controle (sem partículas) apresentou comportamento oposto. Entretanto, é importante mencionar que as propriedades mecânicas na camada adesiva diminuíram na maioria dos grupos, possivelmente devido à degradação hidrolítica polimérica (17, 18). Para o mesmo período de armazenamento, também se observam aumentos no módulo de elasticidade da camada híbrida de superfícies dentinárias desmineralizadas que receberam aplicação *primers* contendo vidro de nióbio, biovidro original (112) ou nanopartículas poliméricas dopadas com zinco (113) seguidas da aplicação de um adesivo comercial.

Amostras de dentina desmineralizada também foram colocadas em contato com resinas compostas experimentais contendo partículas bioativas. Os resultados sugerem evidências adicionais da precipitação mineral dentro da rede colágena. Após duas semanas de armazenamento em FCS, um compósito experimental contendo 15% em massa de biovidro original promoveu aumento da ordem de 25% na microdureza superficial de uma dentina bovina desmineralizada (114). Após 30 dias de armazenamento em saliva artificial, aumentos de 13% no módulo de elasticidade também foram verificados em palitos de dentina humana totalmente desmineralizada mantidos em contato com barras de um compósito experimental contendo 50% em massa de biovidro original, enquanto aqueles em contato com o a resina controle apresentaram redução de 32% (43).

Os estudos *in vivo* utilizando cimentos resinosos contendo TTCP e DCPA (65% em massa), embora não relacionados às interfaces adesivas, precisam ser mencionados. Após a remoção seletiva da cárie esses cimentos experimentais foram aplicados diretamente em dentina desmineralizada como material de base antes da restauração com um compósito comercial. Após três

meses, os dentes foram extraídos e a remineralização da dentina foi avaliada. Nos dentes tratados com o cimento experimental, os teores de cálcio e fosfato foram recuperados a níveis semelhantes aos da dentina hígida (85), porém apesar dos valores de microdureza da dentina serem estatisticamente maiores do que nas amostras de controle negativo, ainda não atingiram o observado na dentina saudável (115). Isso sugere que, *in vivo*, é possível que a utilização desses materiais necessite um mecanismo adicional para direcionar a deposição iônica, como é observado com os estudos utilizando análogos biomiméticos.

A utilização de análogos biomiméticos objetiva guiar a precipitação iônica para dentro da malha colágena promovendo deposição de apatita intra e interfibrilar, restaurando as propriedades mecânicas dentinárias e promovendo maior longevidade da união adesivo-dentinária. Amostras de dentina desmineralizada infiltradas com adesivo ficaram por 4 meses armazenadas em FCS contendo dois análogos biomiméticos: ácido polivinilfosfônico e ácido poliacrílico (10). O módulo elasticidade das amostras armazenadas no meio contendo análogos aumentou quase duas vezes durante as primeiras seis semanas, enquanto as amostras controle mantiveram valores de módulo baixos. Outros estudos corroboram com esse resultado, mesmo quando os análogos são diferentes, como no caso de um FCS contendo ácido poliacrílico e trimetafosfato de sódio. Após seis meses de armazenamento, as amostras de dentina armazenadas nesse meio apresentaram aumentos nas propriedades mecânicas nano-dinâmicas da camada híbrida enquanto na ausência de análogos biomiméticos, os espécimes mostraram regiões esparsas de resina, ricas em água e declínio significativo das propriedades mecânicas (28).

Quando aplicados na Odontologia restauradora, os análogos podem ser utilizados na forma de *primers*. Ácido poli(aspártico) e/ou trimetafosfato de sódio quando aplicados em uma superfície dentinária previamente à infiltração com adesivos contendo partículas bioativas de silicato de cálcio, contribuíram para a recuperação do módulo de elasticidade da camada híbrida após três meses de armazenamento, especialmente quando houve associação dos dois análogos (103). Da mesma forma, a aplicação de um *primer* contendo PAMAM sobre uma superfície dentinária desmineralizada, em associação a um

compósito contendo NACP, promoveu recuperação mineral e aumento da microdureza (100).

Entretanto, uma inconsistência de resultados na literatura é encontrada quando avaliamos a resistência de união a longo prazo de interfaces restauradas com adesivos contendo partículas liberadoras de íons. Alguns estudos relatam manutenção dos valores de microtração quando utilizados adesivos contendo biovidros, partículas de silicato de cálcio ou óxido de zinco após três ou seis meses de armazenamento (em oposição aos grupos de controle sem partículas) (52, 58, 112, 116). Entretanto, outros estudos não identificam diferenças significantes entre os adesivos contendo ou não partículas (18, 54, 82, 117, 118). Essa variabilidade nos resultados pode estar relacionada com a qualidade da camada híbrida, a hidrofília do adesivo e sua suscetibilidade à hidrólise. Além disso, a hidrofília das partículas também desempenha um papel na resistência união da ligação de longo prazo (58). Por fim, como a composição dos adesivos diferem entre si é difícil estabelecer uma conexão assertiva e firmar conclusões correlacionando a presença de partículas bioativas no adesivo com a resistência de união a longo prazo.

Em relação aos análogos, um dos poucos estudos que avalia resistência de união demonstrou que o ácido poli(aspártico) associado ou não ao trimetafosfato de sódio foram associados a um cimento resinoso contendo partículas de cimento Portland dopado com zinco. Foi possível verificar manutenção da resistência de união mesmo após seis meses de armazenamento (119). Particularmente neste estudo, valores mais elevados de resistência de união foram obtidos quando o ácido poli(aspártico) foi utilizado sem o trimetafosfato de sódio.

Ainda não existem estudos clínicos avaliando a remineralização dentinária conseguida com o uso de análogos biomiméticos de proteínas não-colágenas. Entretanto, considerando as evidências apresentadas na literatura, é possível inferir que a deposição mineral guiada por estas moléculas em associação a uma fonte adicional de íons (representada por materiais contendo partículas liberadoras de íons) permita uma maior recuperação das propriedades mecânicas da dentina afetada por cárie ou totalmente desmineralizada por ácido fosfórico em comparação com a obtida

fisiologicamente. Essa remineralização funcional da interface pode ser capaz de promover proteção do colágeno contra degradação colagenolítica e maior estabilidade da união adesivo-dentinária ao longo do tempo. Entretanto, mais estudos são necessários para definir protocolos clínicos e confirmar a efetividade a longo prazo dessa abordagem de tratamento.

5 CONCLUSÃO

Como base nos resultados é possível concluir que:

- As propriedades de sustentação da dentina derivam em grande parte da mineralização intra-fibrilar. Sendo assim, é importante de incorporar minerais dentro das fibrilas de colágeno para remineralizar e restaurar a funcionalidade do tecido;

- A capacidade de um material de remineralizar dentina deriva do aumento no conteúdo mineral associado a recuperação das propriedades mecânicas. Ou seja, é fundamental avaliar as amostras de dentina remineralizadas por um método de imagem de alta resolução (MEV e MET) e por testes mecânicos;

- Atualmente não há material e nem técnica restauradora capaz de remineralizar a camada híbrida e restaurar completamente suas propriedades mecânicas por meio da formação de apatita em nível de colágeno intra e inter-fibrilar;

- As técnicas atualmente disponíveis não são capazes de remineralizar e proteger imediatamente as fibrilas de colágeno desmineralizadas presentes na dentina afetada por cárie remanescente ou desmineralizada por ácido fosfórico;

- Com base na literatura disponível, fica evidente que a maioria das abordagens biomiméticas para remineralização ainda está em estágio laboratorial;

- Há uma abundância de evidências *in vitro* demonstrando a possibilidade da precipitação mineral dentro da camada híbrida e redução da degradação do colágeno tanto através da utilização de *primers* experimentais contendo análogos biomiméticos quanto através da utilização de materiais contendo partículas liberadoras de íons (BAG, silicatos de cálcio e CaP). Provavelmente, a melhor abordagem será associá-las;

- No entanto, mais estudos são necessários para definir protocolos clinicamente úteis e verificar sua eficácia em longo prazo.

REFERÊNCIAS¹

1. White DJ. The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. *Adv Dent Res.* 1995;9(3):175-93; discussion 94-7.
2. Liu Y, Tjaderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, et al. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res.* 2011;90(8):953-68.
3. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater.* 2008;24(1):90-101.
4. Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater.* 2012;28(1):72-86.
5. Sauro S, Watson TF, Mannocci F, Miyake K, Huffman BP, Tay FR, et al. Two-photon laser confocal microscopy of micropermeability of resin-dentin bonds made with water or ethanol wet bonding. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009;90(1):327-37.
6. Suppa P, Breschi L, Ruggeri A, Mazzotti G, Prati C, Chersoni S, et al. Nanoleakage within the hybrid layer: a correlative FEISEM/TEM investigation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005;73(1):7-14.
7. Breschi L, Maravic T, Cunha SR, Comba A, Cadenaro M, Tjaderhane L, et al. Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dent Mater.* 2018;34(1):78-96.
8. Frassetto A, Breschi L, Turco G, Marchesi G, Di Lenarda R, Tay FR, et al. Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability--A literature review. *Dent Mater.* 2016;32(2):e41-53.
9. Akimoto N, Yokoyama G, Ohmori K, Suzuki S, Kohno A, Cox CF. Remineralization across the resin-dentin interface: in vivo evaluation with nanoindentation measurements, EDS, and SEM. *Quintessence Int.* 2001;32(7):561-70.
10. Gu LS, Huffman BP, Arola DD, Kim YK, Mai S, Elsalanty ME, et al. Changes in stiffness of resin-infiltrated demineralized dentin after remineralization by a bottom-up biomimetic approach. *Acta biomaterialia.* 2010;6(4):1453-61.
11. Wu Z, Wang X, Wang Z, Shao C, Jin X, Zhang L, et al. Self-Etch Adhesive as a Carrier for ACP Nanoprecursors to Deliver Biomimetic Remineralization. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2017;9(21):17710-7.
12. Garcia IM, Leitune VCB, Samuel SMW, Collares FM. Influence of Different Calcium Phosphates on an Experimental Adhesive Resin. *J Adhes Dent.* 2017;19(5):379-84.
13. He L, Hao Y, Zhen L, Liu H, Shao M, Xu X, et al. Biomineralization of dentin. *J Struct Biol.* 2019;207(2):115-22.
14. Niu LN, Zhang W, Pashley DH, Breschi L, Mao J, Chen JH, et al. Biomimetic remineralization of dentin. *Dent Mater.* 2014;30(1):77-96.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

15. Shen C, Zhang NZ, Anusavice KJ. Fluoride and chlorhexidine release from filled resins. *J Dent Res*. 2010;89(9):1002-6.
16. Xu HH, Moreau JL, Sun L, Chow LC. Nanocomposite containing amorphous calcium phosphate nanoparticles for caries inhibition. *Dent Mater*. 2011;27(8):762-9.
17. Sauro S, Osorio R, Watson TF, Toledano M. Therapeutic effects of novel resin bonding systems containing bioactive glasses on mineral-depleted areas within the bonded-dentine interface. *Journal of materials science Materials in medicine*. 2012;23(6):1521-32.
18. Sauro S, Osorio R, Osorio E, Watson TF, Toledano M. Novel light-curable materials containing experimental bioactive micro-fillers remineralise mineral-depleted bonded-dentine interfaces. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2013;24(8):940-56.
19. Braga RR, Fronza BM. The use of bioactive particles and biomimetic analogues for increasing the longevity of resin-dentin interfaces: A literature review. *Dental materials journal*. 2020;39(1):62-8.
20. Liu Y, Mai S, Li N, Yiu CK, Mao J, Pashley DH, et al. Differences between top-down and bottom-up approaches in mineralizing thick, partially demineralized collagen scaffolds. *Acta biomaterialia*. 2011;7(4):1742-51.
21. Nancollas GH, Wu W. Biomineralization mechanisms: a kinetics and interfacial energy approach. *Journal of Crystal Growth*. 2000;211(1):137-42.
22. Tay FR, Pashley DH. Guided tissue remineralisation of partially demineralised human dentine. *Biomaterials*. 2008;29(8):1127-37.
23. Tay FR, Pashley DH. Biomimetic remineralization of resin-bonded acid-etched dentin. *J Dent Res*. 2009;88(8):719-24.
24. Kim J, Arola DD, Gu L, Kim YK, Mai S, Liu Y, et al. Functional biomimetic analogs help remineralize apatite-depleted demineralized resin-infiltrated dentin via a bottom-up approach. *Acta Biomater*. 2010;6(7):2740-50.
25. Liu Y, Li N, Qi Y, Niu LN, Elshafiy S, Mao J, et al. The use of sodium trimetaphosphate as a biomimetic analog of matrix phosphoproteins for remineralization of artificial caries-like dentin. *Dent Mater*. 2011;27(5):465-77.
26. Qi YP, Li N, Niu LN, Primus CM, Ling JQ, Pashley DH, et al. Remineralization of artificial dentinal caries lesions by biomimetically modified mineral trioxide aggregate. *Acta biomaterialia*. 2012;8(2):836-42.
27. Kim YK, Mai S, Mazzoni A, Liu Y, Tezvergil-Mutluay A, Takahashi K, et al. Biomimetic remineralization as a progressive dehydration mechanism of collagen matrices--implications in the aging of resin-dentin bonds. *Acta biomaterialia*. 2010;6(9):3729-39.
28. Ryou H, Niu LN, Dai L, Pucci CR, Arola DD, Pashley DH, et al. Effect of biomimetic remineralization on the dynamic nanomechanical properties of dentin hybrid layers. *J Dent Res*. 2011;90(9):1122-8.
29. Tjaderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldelli S, et al. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater*. 2013;29(1):116-35.
30. Mazzoni A, Nascimento FD, Carrilho M, Tersariol I, Papa V, Tjaderhane L, et al. MMP activity in the hybrid layer detected with in situ zymography. *J Dent Res*. 2012;91(5):467-72.
31. Sauro S, Pashley DH, Mannocci F, Tay FR, Pilecki P, Sherriff M, et al. Micropermeability of current self-etching and etch-and-rinse adhesives bonded

- to deep dentine: a comparison study using a double-staining/confocal microscopy technique. *Eur J Oral Sci.* 2008;116(2):184-93.
32. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, et al. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2006;114(2):160-6.
33. Anchieta RB, Machado LS, Martini AP, Santos PH, Giannini M, Janal M, et al. Effect of long-term storage on nanomechanical and morphological properties of dentin-adhesive interfaces. *Dent Mater.* 2015;31(2):141-53.
34. Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *Journal of biomedical materials research.* 2002;62(3):447-56.
35. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res.* 2005;84(2):118-32.
36. Park JG, Ye Q, Topp EM, Kostoryz EL, Wang Y, Kieweg SL, et al. Preparation and Properties of Novel Dentin Adhesives with Esterase Resistance. *J Appl Polym Sci Symp.* 2008;107(6):3588-97.
37. Delaviz Y, Finer Y, Santerre JP. Biodegradation of resin composites and adhesives by oral bacteria and saliva: a rationale for new material designs that consider the clinical environment and treatment challenges. *Dent Mater.* 2014;30(1):16-32.
38. Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater.* 2006;22(3):211-22.
39. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003;28(3):215-35.
40. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res.* 2010;89(11):1187-97.
41. Saito T, Yamauchi M, Crenshaw MA. Apatite induction by insoluble dentin collagen. *J Bone Miner Res.* 1998;13(2):265-70.
42. ten Cate JM. Remineralization of caries lesions extending into dentin. *J Dent Res.* 2001;80(5):1407-11.
43. Tezvergil-Mutluay A, Seseogullari-Dirihan R, Feitosa VP, Cama G, Brauer DS, Sauro S. Effects of Composites Containing Bioactive Glasses on Demineralized Dentin. *J Dent Res.* 2017;96(9):999-1005.
44. Vollenweider M, Brunner TJ, Knecht S, Grass RN, Zehnder M, Imfeld T, et al. Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomater.* 2007;3(6):936-43.
45. Aggarwal V, Bhasin SS. Application of Calcium Silicate Materials After Acid Etching May Preserve Resin-Dentin Bonds. *Oper Dent.* 2018;43(5):E243-E52.
46. Profeta AC, Mannocci F, Foxton R, Watson TF, Feitosa VP, De Carlo B, et al. Experimental etch-and-rinse adhesives doped with bioactive calcium silicate-based micro-fillers to generate therapeutic resin-dentin interfaces. *Dent Mater.* 2013;29(7):729-41.
47. Braga RR. Calcium phosphates as ion-releasing fillers in restorative resin-based materials. *Dent Mater.* 2019;35(1):3-14.
48. Osorio R, Yamauti M, Sauro S, Watson TF, Toledano M. Experimental resin cements containing bioactive fillers reduce matrix metalloproteinase-mediated dentin collagen degradation. *J Endod.* 2012;38(9):1227-32.

49. Tezvergil-Mutluay A, Seseogullari-Dirihan R, Feitosa VP, Tay FR, Watson TF, Pashley DH, et al. Zoledronate and ion-releasing resins impair dentin collagen degradation. *J Dent Res.* 2014;93(10):999-1004.
50. Makowski GS, Ramsby ML. Differential effect of calcium phosphate and calcium pyrophosphate on binding of matrix metalloproteinases to fibrin: comparison to a fibrin-binding protease from inflammatory joint fluids. *Clin Exp Immunol.* 2004;136(1):176-87.
51. Hench LL. The story of Bioglass. *Journal of materials science Materials in medicine.* 2006;17(11):967-78.
52. Profeta AC, Mannocci F, Foxton RM, Thompson I, Watson TF, Sauro S. Bioactive effects of a calcium/sodium phosphosilicate on the resin-dentine interface: a microtensile bond strength, scanning electron microscopy, and confocal microscopy study. *Eur J Oral Sci.* 2012;120(4):353-62.
53. Jun SK, Yang SA, Kim YJ, El-Fiqi A, Mandakhbayar N, Kim DS, et al. Multi-functional nano-adhesive releasing therapeutic ions for MMP-deactivation and remineralization. *Sci Rep.* 2018;8(1):5663.
54. Sauro S, Watson TF, Thompson I, Banerjee A. One-bottle self-etching adhesives applied to dentine air-abraded using bioactive glasses containing polyacrylic acid: an in vitro microtensile bond strength and confocal microscopy study. *J Dent.* 2012;40(11):896-905.
55. Huan Z, Chang J, Huang XH. Self-setting properties and in vitro bioactivity of $\text{Ca}_2\text{SiO}_4/\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ composite bone cement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008;87(2):387-94.
56. Coleman NJ, Awosanya K, Nicholson JW. Aspects of the in vitro bioactivity of hydraulic calcium (alumino)silicate cement. *J Biomed Mater Res A.* 2009;90(1):166-74.
57. Taddei P, Modena E, Tinti A, Siboni F, Prati C, Gandolfi M. Vibrational investigation on the in vitro bioactivity of commercial and experimental calcium-silicate cements for root-end endodontic therapy. 2011.
58. Profeta AC, Mannocci F, Foxton R, Watson TF, Feitosa VP, De Carlo B, et al. Experimental etch-and-rinse adhesives doped with bioactive calcium silicate-based micro-fillers to generate therapeutic resin-dentin interfaces. *Dent Mater.* 2013;29(7):729-41.
59. Osorio R, Yamauti M, Sauro S, Watson TF, Toledano M. Zinc incorporation improves biological activity of beta-tricalcium silicate resin-based cement. *J Endod.* 2014;40(11):1840-5.
60. Dorozhkin SV, Epple M. Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2002;41(17):3130-46.
61. Epple M. Review of potential health risks associated with nanoscopic calcium phosphate. *Acta biomaterialia.* 2018;77:1-14.
62. Dorozhkin SV. Calcium orthophosphates in dentistry. *Journal of materials science Materials in medicine.* 2013;24(6):1335-63.
63. LeGeros RZ. Calcium phosphates in oral biology and medicine. *Monogr Oral Sci.* 1991;15:1-201.
64. Wang L, Nancollas GH. Calcium orthophosphates: crystallization and dissolution. *Chem Rev.* 2008;108(11):4628-69.
65. Skrtic D, Antonucci JM, Eanes ED. Improved properties of amorphous calcium phosphate fillers in remineralizing resin composites. *Dent Mater.* 1996;12(5):295-301.

66. Langhorst SE, O'Donnell JN, Skrtic D. In vitro remineralization of enamel by polymeric amorphous calcium phosphate composite: quantitative microradiographic study. *Dent Mater.* 2009;25(7):884-91.
67. Melo MA, Weir MD, Rodrigues LK, Xu HH. Novel calcium phosphate nanocomposite with caries-inhibition in a human in situ model. *Dent Mater.* 2013;29(2):231-40.
68. Zhang N, Melo MA, Chen C, Liu J, Weir MD, Bai Y, et al. Development of a multifunctional adhesive system for prevention of root caries and secondary caries. *Dent Mater.* 2015;31(9):1119-31.
69. Al-Dulajjan YA, Cheng L, Weir MD, Melo MAS, Liu H, Oates TW, et al. Novel rechargeable calcium phosphate nanocomposite with antibacterial activity to suppress biofilm acids and dental caries. *J Dent.* 2018;72:44-52.
70. Wu Z, Xiaokan W, Wang Z, Changyu S, Jin X, Zhang L, et al. Self-Etch Adhesive as a Carrier for ACP Nanoprecursors to Deliver Biomimetic Remineralization. *ACS applied materials & interfaces.* 2017;9.
71. Xu HH, Weir MD, Sun L. Nanocomposites with Ca and PO₄ release: effects of reinforcement, dicalcium phosphate particle size and silanization. *Dent Mater.* 2007;23(12):1482-91.
72. Xu HH, Weir MD, Sun L, Moreau JL, Takagi S, Chow LC, et al. Strong nanocomposites with Ca, PO₄, and F release for caries inhibition. *J Dent Res.* 2010;89(1):19-28.
73. Chiari MDS, Alania Y, Bedran-Russo AK, Braga RR. Experimental dentin adhesives containing calcium orthophosphate particles: Effect on dentin bond strength, micro-permeability and collagen degradation. *International Journal of Adhesion and Adhesives.* 2021;107:102828.
74. Chiari MD, Rodrigues MC, Xavier TA, de Souza EM, Arana-Chavez VE, Braga RR. Mechanical properties and ion release from bioactive restorative composites containing glass fillers and calcium phosphate nano-structured particles. *Dent Mater.* 2015;31(6):726-33.
75. Chiari MDS, Rodrigues MC, Pinto MFC, Vieira DN, Vichi FM, Vega O, et al. Development of brushite particles synthesized in the presence of acidic monomers for dental applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020;116:111178.
76. Alania Y, Chiari MD, Rodrigues MC, Arana-Chavez VE, Bressiani AH, Vichi FM, et al. Bioactive composites containing TEGDMA-functionalized calcium phosphate particles: Degree of conversion, fracture strength and ion release evaluation. *Dent Mater.* 2016;32(12):e374-e81.
77. Natale LC, Rodrigues MC, Alania Y, Chiari MDS, Boaro LCC, Cotrim M, et al. Mechanical characterization and ion release of bioactive dental composites containing calcium phosphate particles. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2018;84:161-7.
78. Rodrigues MC, Chiari MDS, Alania Y, Natale LC, Arana-Chavez VE, Meier MM, et al. Ion-releasing dental restorative composites containing functionalized brushite nanoparticles for improved mechanical strength. *Dent Mater.* 2018;34(5):746-55.
79. Vilela HS, Campos AL, Cabral C, Chiari MDS, Vieira DN, Braga RR. Effect of calcium orthophosphate: Reinforcing glass ratio and prolonged water storage on flexural properties of remineralizing composites. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2020;104:103637.

80. Xu HH, Moreau JL. Dental glass-reinforced composite for caries inhibition: calcium phosphate ion release and mechanical properties. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2010;92(2):332-40.
81. Mehdawi I, Neel EA, Valappil SP, Palmer G, Salih V, Pratten J, et al. Development of remineralizing, antibacterial dental materials. *Acta biomaterialia.* 2009;5(7):2525-39.
82. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M, Wang J, Jiang T, Wang Y, et al. Polycarboxylated microfillers incorporated into light-curable resin-based dental adhesives evoke remineralization at the mineral-depleted dentin. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2014;25(7):679-97.
83. Dickens SH, Flaim GM, Takagi S. Mechanical properties and biochemical activity of remineralizing resin-based Ca-PO₄ cements. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials.* 2003;19(6):558-66.
84. Dickens SH, Flaim GM. Effect of a bonding agent on in vitro biochemical activities of remineralizing resin-based calcium phosphate cements. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials.* 2008;24(9):1273-80.
85. Peters MC, Bresciani E, Barata TJ, Fagundes TC, Navarro RL, Navarro MF, et al. In vivo dentin remineralization by calcium-phosphate cement. *J Dent Res.* 2010;89(3):286-91.
86. Rodrigues MC, Hower TL, Brito GE, Arana-Chavez VE, Braga RR. Calcium phosphate nanoparticles functionalized with a dimethacrylate monomer. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2014;45:122-6.
87. Natale LC, Rodrigues MC, Alania Y, Chiari MDS, Vilela HS, Vieira DN, et al. Development of calcium phosphate/ethylene glycol dimethacrylate particles for dental applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2019;107(3):708-15.
88. Bertassoni LE, Habelitz S, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW, Jr. Biomechanical perspective on the remineralization of dentin. *Caries Res.* 2009;43(1):70-7.
89. Marchi JJ, Froner AM, Alves HL, Bergmann CP, Araujo FB. Analysis of primary tooth dentin after indirect pulp capping. *J Dent Child (Chic).* 2008;75(3):295-300.
90. Miyauchi H, Iwaku M, Fusayama T. Physiological recalcification of carious dentin. *Bull Tokyo Med Dent Univ.* 1978;25(3):169-79.
91. Bertassoni LE, Habelitz S, Pugach M, Soares PC, Marshall SJ, Marshall GW, Jr. Evaluation of surface structural and mechanical changes following remineralization of dentin. *Scanning.* 2010;32(5):312-9.
92. Gower LB, Odom DJ. Deposition of calcium carbonate films by a polymer-induced liquid-precursor (PILP) process. *Journal of Crystal Growth.* 2000;210(4):719-34.
93. Gower LA, Tirrell DA. Calcium carbonate films and helices grown in solutions of poly(aspartate). *Journal of Crystal Growth.* 1998;191(1):153-60.
94. Olszta MJ, Douglas EP, Gower LB. Scanning electron microscopic analysis of the mineralization of type I collagen via a polymer-induced liquid-precursor (PILP) process. *Calcified tissue international.* 2003;72(5):583-91.
95. Burwell AK, Thula-Mata T, Gower LB, Habelitz S, Kurylo M, Ho SP, et al. Functional remineralization of dentin lesions using polymer-induced liquid-precursor process. *PLoS One.* 2012;7(6):e38852.

96. Nurrohman H, Carneiro KMM, Hellgeth J, Saeki K, Marshall SJ, Marshall GW, et al. The role of protease inhibitors on the remineralization of demineralized dentin using the PILP method. *PLoS one*. 2017;12(11):e0188277.
97. Saeki K, Chien YC, Nonomura G, Chin AF, Habelitz S, Gower LB, et al. Recovery after PILP remineralization of dentin lesions created with two cariogenic acids. *Arch Oral Biol*. 2017;82:194-202.
98. Bacino M, Girn V, Nurrohman H, Saeki K, Marshall SJ, Gower L, et al. Integrating the PILP-mineralization process into a restorative dental treatment. *Dent Mater*. 2019;35(1):53-63.
99. Li J, Yang J, Li J, Chen L, Liang K, Wu W, et al. Bioinspired intrafibrillar mineralization of human dentine by PAMAM dendrimer. *Biomaterials*. 2013;34(28):6738-47.
100. Liang K, Zhou H, Weir MD, Bao C, Reynolds MA, Zhou X, et al. Poly(amido amine) and calcium phosphate nanocomposite remineralization of dentin in acidic solution without calcium phosphate ions. *Dent Mater*. 2017;33(7):818-29.
101. Saeki K, Chien YC, Nonomura G, Chin AF, Habelitz S, Gower LB, et al. Recovery after PILP remineralization of dentin lesions created with two cariogenic acids. *Archives of Oral Biology*. 2017;82:194-202.
102. Saxena N, Cremer MA, Dolling ES, Nurrohman H, Habelitz S, Marshall GW, et al. Influence of fluoride on the mineralization of collagen via the polymer-induced liquid-precursor (PILP) process. *Dental Materials*. 2018;34(9):1378-90.
103. Sauro S, Osorio R, Watson TF, Toledano M. Influence of phosphoproteins' biomimetic analogs on remineralization of mineral-depleted resin-dentin interfaces created with ion-releasing resin-based systems. *Dent Mater*. 2015;31(7):759-77.
104. Li X, De Munck J, Yoshihara K, Pedano M, Van Landuyt K, Chen Z, et al. Re-mineralizing dentin using an experimental tricalcium silicate cement with biomimetic analogs. *Dent Mater*. 2017;33(5):505-13.
105. Liang K, Weir MD, Reynolds MA, Zhou X, Li J, Xu HHK. Poly (amido amine) and nano-calcium phosphate bonding agent to remineralize tooth dentin in cyclic artificial saliva/lactic acid. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;72:7-17.
106. Liang K, Xiao S, Wu J, Li J, Weir MD, Cheng L, et al. Long-term dentin remineralization by poly(amido amine) and rechargeable calcium phosphate nanocomposite after fluid challenges. *Dent Mater*. 2018;34(4):607-18.
107. Kinney JH, Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW. The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. *J Dent Res*. 2003;82(12):957-61.
108. Bertassoni LE, Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW. Mechanical recovery of dentin following remineralization in vitro--an indentation study. *J Biomech*. 2011;44(1):176-81.
109. Olszta MJ, Cheng X, Jee SS, Kumar R, Kim Y-Y, Kaufman MJ, et al. Bone structure and formation: A new perspective. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2007;58(3):77-116.
110. Nudelman F, Pieterse K, George A, Bomans PH, Friedrich H, Brylka LJ, et al. The role of collagen in bone apatite formation in the presence of hydroxyapatite nucleation inhibitors. *Nat Mater*. 2010;9(12):1004-9.
111. Prati C, Gandolfi MG. Calcium silicate bioactive cements: Biological perspectives and clinical applications. *Dent Mater*. 2015;31(4):351-70.
112. Bauer J, Silva ESA, Carvalho EM, Ferreira PVC, Carvalho CN, Manso AP, et al. Dentin pretreatment with 45S5 and niobophosphate bioactive glass:

- Effects on pH, antibacterial, mechanical properties of the interface and microtensile bond strength. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2019;90:374-80.
113. Osorio R, Cabello I, Medina-Castillo AL, Osorio E, Toledano M. Zinc-modified nanopolymers improve the quality of resin-dentin bonded interfaces. *Clin Oral Investig.* 2016;20(9):2411-20.
114. Jang JH, Lee MG, Ferracane JL, Davis H, Bae HE, Choi D, et al. Effect of bioactive glass-containing resin composite on dentin remineralization. *J Dent.* 2018;75:58-64.
115. Bresciani E, Wagner WC, Navarro MF, Dickens SH, Peters MC. In vivo dentin microhardness beneath a calcium-phosphate cement. *J Dent Res.* 2010;89(8):836-41.
116. Toledano M, Yamauti M, Ruiz-Requena ME, Osorio R. A ZnO-doped adhesive reduced collagen degradation favouring dentine remineralization. *J Dent.* 2012;40(9):756-65.
117. Sauro S, Osorio R, Fulgêncio R, Watson TF, Cama G, Thompson I, et al. Remineralisation properties of innovative light-curable resin-based dental materials containing bioactive micro-fillers. *Journal of Materials Chemistry B.* 2013;1(20):2624-38.
118. Carneiro KK, Araujo TP, Carvalho EM, Meier MM, Tanaka A, Carvalho CN, et al. Bioactivity and properties of an adhesive system functionalized with an experimental niobium-based glass. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2018;78:188-95.
119. Osorio R, Sauro S, Watson TF, Toledano M. Polyaspartic acid enhances dentine remineralization bonded with a zinc-doped Portland-based resin cement. *Int Endod J.* 2016;49(9):874-83.