



**EFFECTO EN LA FUERZA DE ADHESIÓN A DENTINA DE
SOLUCIONES INHIBIDORAS DE LAS METALOPROTEINASAS. UNA
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.**

Trabajo de Investigación requisito para optar al Título de Cirujano
Dentista

Alumna: Macarena Prado Flores
Docente guía: Dr. José Antonio Rojas

Valparaíso – Chile
2017

Índice

INTRODUCCION

METODOLOGÍA

Relevancia clínica

ANTECEDENTES

Estructura dentinaria

Composición química

Propiedades

Estructura

Reacción de defensa frente a caries

Adhesión a estructura dentinaria

Proteínas dentinarias de matriz

MMPs y cisteínas catepsinas, y su rol en la capa híbrida

HALLAZGOS

Sistemas Adhesivos

Inhibidores de actividad proteolítica y su efecto en la fuerza adhesiva

Clorhexidina

EDTA

Compuestos de amonio cuaternario

Metacrilatos y sales de zinc

Alcoholes

Familia de las tetraciclinas

Derivados de bifosfonatos

Inhibidores de sustancias naturales

Agentes de reticulación

RESULTADOS

DISCUSIÓN

CONCLUSIÓN

RESUMEN

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Introducción

La caries dental es uno de los problemas más comunes en la odontología. Adicionalmente, la caries secundaria ha sido una de las complicaciones más comunes en la restauración dental.

En la actualidad el avance de agentes adhesivos ha permitido aumentar la fuerza de adhesión entre la resina y las estructuras dentales, permitiendo un buen sellado marginal de restauraciones. No obstante, las técnicas adhesivas con las que se cuenta hoy en día son sensibles a los procedimientos agregados en cada una de sus fases clínicas, y, por lo tanto, es importante conocer y manejar una serie de variables que permitan optimizar los resultados clínicos.

Algunos estudios muestran que los microorganismos que quedan en la cavidad preparada podrían sobrevivir por largos períodos de tiempo (Darabi 2008), problema que puede verse potenciado por la microinfiltración en márgenes de resina que no terminan en esmalte. Para solucionar este problema, se ha propuesto el uso de soluciones antimicrobianas.

Estudios recientes han encontrado que el uso de soluciones de clorhexidina es efectivo en la reducción de *Streptococcus mutans* en fisuras oclusales. Se ha sugerido que el uso de una solución de clorhexidina 2% en la preparación cavitaria previa a la restauración podría ayudar a reducir caries secundarias y sensibilidad post operatoria.

Sin embargo, Siso (2009) nos muestra que el uso de clorhexidina da mejores resultados en la interfase resina-esmalte, y es débil en la interfase dentina-resina, al ser aplicado como método antibacteriano.

Debemos considerar que los procedimientos actuales de eliminación de caries no siempre remueven todos los microorganismos cariogénicos, contaminantes, aceite de la turbina y residuos del fresado, sin embargo, la mayoría de los estudios se enfocan en la eliminación de microorganismos como objetivo de la desinfección cavitaria.

Otros autores como Bracket (2010) han sugerido que el uso de Clorhexidina inhibe de forma no selectiva la activación de metaloproteinasas responsables de la degradación del colágeno desmineralizado expuesto durante el grabado ácido y que esto puede incidir en disminuciones de los niveles de resistencia adhesiva, por lo que sugiere incorporarlos en alguna etapa de la técnica adhesiva. Es importante recalcar que la microinfiltración no tiene un valor predictivo desde el punto de vista experimental, por lo que muchos autores como Heintze proponen descartar esta metodología y reemplazarla por otras, como la microtracción, que sí pueden derivar en conclusiones de uso clínico.

Aquí radica la importancia de buscar nuevas soluciones desinfectantes/desproteinizantes/surfactantes que puedan ser incorporadas al protocolo de materiales restauradores adhesivos directos, que no sólo eliminen microorganismos, si no todo tipo de contaminante producto de la preparación cavitaria, que aumenten la resistencia adhesiva del material restaurador a la dentina, que optimicen el proceso y sean de fácil acceso para el odontólogo.

Los objetivos de esta revisión bibliográfica son:

- Recopilar la información mas actualizada sobre el rol de las metaloproteinasas en la formación dentinaria
- Recopilar la información mas actualizada sobre el rol de las metaloproteinasas en la degradación de la capa híbrida
- Recopilar la información mas actualizada de los desinfectantes mas comunmente utilizados, y su efecto en la adhesión a dentina de resina compuesta
- Determinar el efecto de diferentes desinfectantes en la fuerza de tracción inmediata (uTBS)

Relevancia clínica

El éxito de las restauraciones de resina depende en gran cantidad en la durabilidad de la interface adhesiva entre el material restaurador y el sustrato dentinario. Un conocimiento exhaustivo del rol de las proteasas endógenas en la degradación de la interfase dentina/resina es necesaria para generar un cambio en la fabricación de nuevos materiales restauradores y en la selección de las técnicas clínicas. Al eliminar los mecanismos responsables de la degradación temprana de éstas restauraciones, se puede preservar la integridad de la interface adhesiva en el tiempo.

Metodología

Se realizó una búsqueda electrónica en las bases de dato de PubMed, MEDLINE y Cochrane con los siguiente términos: Cavity disinfectants AND bond strength AND dentin. Se obtuvieron 12 artículos de PubMed, 45 de PubMed Central (PMC) y 1 de la librería Cochrane. Al aplicar filtros de estudios en humanos, y antigüedad máxima de 5 años, se obtuvieron 2 artículos de PubMed, 29 de PMC y 1 de Cochrane. De la base de datos de PMC se eliminaron estudios que realizaban tratamientos en conductos radiculares, adhesión a cemento ionómero vítreo, sellado marginal de clases V, aplicación de terapias laser y su efecto en el biofilm dental, efecto de irrigantes en el canal radicular, efecto de desinfectantes en la unidad formadora de colonias, y estudios que evalúan únicamente la resistencia al cizallamiento (uSBS) y no la resistencia traccional (uTBS). Se obtuvieron finalmente 8 estudios de PMC. En total, esta búsqueda dio 11 resultados que cumplían los criterios.

Se realizó una segunda búsqueda con los siguientes términos: resin dentin bond AND degradation AND metalloproteinase OR hybrid layer. Se obtuvieron 32 artículos de PubMed, 129 de PMC y 4 de Cochrane. Al Aplicar filtros de estudios en humanos, y antigüedad máxima de 5 años, se obtuvieron 11 artículos de PubMed y 35 de PMC. No se aplicó filtros a la búsqueda de Cochrane, ya que resultaba en 0 artículos. De los 11 artículos de la base de datos de PubMed, se eliminaron los que medían microinfiltración, quedando 10 artículos. De los 35 artículos de PMC se eliminaron los que sólo evaluaban resistencia al cizallamiento, los que no utilizaban un grupo de control, los que no realizaban pruebas de resistencia adhesiva, y los que coincidían con la búsqueda de PubMed quedando 16 artículos. De la librería Cochrane, 2 estaban incluidos en la búsqueda de PMC y 2 fueron descartados por que no medían resistencia adhesiva.

En total, esta búsqueda dio 26 resultados que cumplían los criterios.

Antecedentes

I. Estructura dentinaria

Composición química de la dentina

Se considera que la dentina contiene un 70% de sustancia inorgánica, un 12% de agua y un 18% de sustancia orgánica. Esta composición varía según la edad y área de tejido que se analiza. ⁽¹⁾

Sustancia inorgánica: la parte mineral está constituida principalmente por cristales de hidroxiapatita, cuya longitud promedio es de 60 nm, o sea son más pequeños que los del esmalte. En las sales minerales de la dentina se encuentran además carbonatos y sulfatos de calcio y otros elementos como flúor, hierro, cobre, zinc, etc. en muy pequeñas cantidades. ⁽¹⁾

Sustancia orgánica: un 93% está compuesta de proteínas de colágeno (I, II, III y V, con características de autoensamblaje), proteínas específicas de dentina (fosforina, sialoproteína, proteína AG1, factores de crecimiento -TGF β 1, FGF2, ILGF- y proteínas morfogenéticas) y no específicas (amelogenina, osteocalcina, osteoporina, osteonectina, proteínas ricas en leucina, fosfosialoproteínas y sialoproteínas -SIBLING-), proteoglicanos, glucosaminoglicanos, proteínas derivadas del suero (como la albúmina), glicoproteínas, fosfolípidos y enzimas de la matriz (colagenasas, gelatinasas, peptidasas, fosfatasas, esterases, etc), variando su composición a merced de la posición y tipo de dentina, la cual tiene incrustada minerales de apatita en todo su grosor. ⁽²⁾

Propiedades físicas

1,7	Módulo de elasticidad "E" ($\times 10^6$ lb/pulg ²)
0,25	Índice de Poisson
7,5	Coeficiente de expansión térmica ($\times 10^{-6}/^{\circ}\text{C}$)
1,36	Conductividad térmica $\times 10^{-3}$ cal/seg cm ^{°C}
1,96	Densidad (g/cm ³)
0,38	Calor específico cal/g ^{°C}
1,38	Difusividad térmica ($\times 10^{-3}$ cm/seg)
68 (+/-3)	Dureza (Knoop)

Tabla I. Propiedades físicas de la dentina

Estructura

La dentina es un tejido altamente calcificado surcado por conductillos que alojan en su interior una sustancia protoplasmática, cuya célula madre se encuentra en la pulpa, recubre la pared interna de la dentina y se denomina odontoblasto. ⁽¹⁾

Estos conductillos dentinarios que atraviesan todo el espesor de la dentina primaria contienen líquido tisular (fluido dentinario), prolongaciones citoplasmáticas celulares (procesos odontoblásticos extendidos hasta por lo menos el 50% de la distancia dentinaria), fibras nerviosas y colágenas.

Durante el proceso de mineralización de dentina y hueso, las fibras colágenas proveen el compartimiento acuoso en el cual crecen cristales de apatita de tamaño nanométrico. En tejidos blandos (y en dentina y matriz ósea previo a la mineralización), los espacios intermoleculares de colágeno contienen moléculas de agua altamente ordenadas e íntimamente unidas formando cilindros de múltiples capas alrededor de las moléculas de colágeno. (Fig 1) durante el proceso de mineralización, el agua entre y alrededor de las fibras es reemplazado progresivamente por minerales. ⁽³⁾

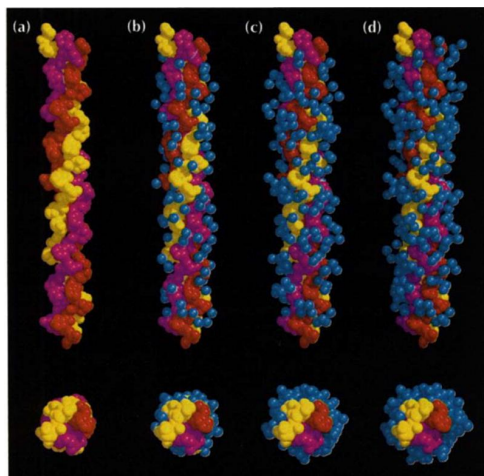


Fig 1. Representación de la hidratación progresiva del péptido colágeno Gly-ala. La fila superior presenta una vista perpendicular y la inferior una vista paralela del axis de la molécula para los mismos niveles de hidratación. (a) Una vista del colágeno no hidratado, con las cadenas peptídicas representadas por 3 colores diferentes. (b) La primera capa de moléculas de agua (esferas azules), directamente unidas mediante enlaces de hidrógeno al grupo carbonil, hidroxil o amida en la superficie del péptido. (c) La segunda capa de moléculas de agua unida mediante enlaces de hidrógeno a la primera capa. (d) La tercera capa de moléculas de agua.

El diámetro interno de los conductillos dentinarios y su densidad varían de acuerdo a la profundidad dentinaria que a su vez está relacionada con el área de dentina intertubular y la humedad superficial. El fluido pulpar intersticial ejerce presión positiva centrífuga y se expresa como fluido dentinario a través de los túbulos dentinales, los que son expuestos durante la preparación cavitaria. En la dentina ya formada, el proceso odontoblástico consta de un tronco principal grueso (0,5-1,0 μ m) y unas ramas laterales más delgadas (0,1-0,2 μ m). El proceso odontoblástico contiene organelos responsables para exocitosis y endocitosis, forma glóbulos o vesículas de mineralización y es rico en filamentos intermedios y microtúbulos, y se extiende al menos de un tercio a la mitad de la dentina mineralizada, aunque elementos celulares probablemente de origen odontoblástico han sido observados muchas veces a todo lo largo de su espesor. Los cuerpos de los odontoblastos están conectados entre sí por uniones tipo desmosomas, y están altamente especializados en la síntesis y excreción de moléculas orgánicas y la mineralización de la dentina. ⁽²⁾

Túbulos dentinarios

Atraviesan toda la dentina y tiene una dirección en forma de S, desde el límite del esmalte hacia la pulpa. Alojados en su interior la fibrilla de Tomes o prolongación citoplasmática del odontoblasto.

El diámetro es muy variable según la edad del diente, su condición fisiopatológica y el sitio donde se mide. Es mayor junto a la pared pulpar que en el límite amelodentinario. En un diente joven, junto a la pulpa, el túbulo puede tener un diámetro de 2,5 a 4 μ m. Avanzando 0,5 mm hacia el esmalte, el diámetro decrece a 2 μ m; 0,5 más afuera, el diámetro es de 1,5 μ m. Al llegar al límite amelodentinario el diámetro promedio es de 1 μ m y aquí el túbulo a veces se bifurca.

Por mineralización u obturación a causa de la precipitación de sustancia cálcica en la luz del túbulo, por edad o por irritación crónica de la pulpa el túbulo puede tener un diámetro de apenas 0,2 μ m o llegar a ocluirse totalmente. La luz del túbulo ocupa el 80% del volumen de la dentina próxima a la pulpa y sólo el 4% del mismo volumen junto al esmalte. ⁽¹⁾

Dentina peritubular e intertubular

Estos dos tipos de dentina se diferencian por sus distintos grados de calcificación. La peritubular que recubre el túbulo dentinario como una vaina dándole más consistencia, muestra un alto grado de calcificación. La intertubular que separa un

túbulo de sus vecinos, presenta un grado menor de calcificación pero un contenido mayor de matriz orgánica, especialmente de fibras colágenas. ⁽¹⁾

Grado de calcificación

El grado de calcificación de la dentina no es uniforme en las diferentes áreas. Las zonas menos calcificadas que el promedio son la dentina periférica, el límite amelodentinario y la dentina recién formada junto a la pulpa. Las zonas o espacios interglobulares de Czermack están en la dentina coronaria, tienen forma estrellada y se producen porque allí no se depositan calcoferitos. La zona granular de Tomes se localiza en la dentina que se encuentra cerca del cemento radicular. Se halla constituida por túbulos que se ramifican o tuercen al llegar al límite con el cemento.

Las líneas de Von Ebner y las líneas de contorno de Owen indican variaciones en la calcificación que se deben a pausas naturales en el proceso o a perturbaciones ocurridas en el diente durante la dentinogénesis.

Las zonas interglobulares se ubican cerca del esmalte e indican áreas de menor grado de calcificación donde los calcoferitos no han llegado a soldarse totalmente entre sí. Además carecen de dentina peritubular. La dentina terciaria o reparativa es menos dura que la dentina primaria. Las zonas hipocalcificadas poseen más sustancia orgánica y generalmente son zonas de mayor sensibilidad. ⁽¹⁾

Reacción de defensa contra las caries

Dentina translúcida o esclerótica

Por aposición de sales de calcio traídas desde la pulpa a través de los conductillos dentinarios, la dentina modifica su contenido en sustancia mineral. Esto ocurre normalmente por la edad o bien como respuesta a estímulos diversos. Se la denomina dentina translúcida o esclerótica por su aspecto en el microscopio óptico. Sin embargo, Ogawa y col. han demostrado que cuando esta dentina es producida en respuesta al avance de la caries tiene menor dureza a causa de su descalcificación y reprecipitación de cristales de distinta estructura que la hidroxiapatita en la luz del túbulo, no se tiñe con colorante, y por lo tanto no debe ser eliminada. ⁽⁴⁾ De acuerdo con Kurosaki los sistemas adhesivos actúan correctamente sobre esta superficie. ⁽⁵⁾

Yoshiyama demostró que la adhesión a dentina infectada es posible y que se puede formar capa híbrida aún en zonas donde el colágeno no presenta la estructura con las bandas características. ⁽⁶⁾

Dentina secundaria

Al erupcionar, el diente se ve expuesto a una serie de pequeñas irritaciones debidas a la masticación, a traumatismos, a cambios térmicos, a los alimentos, etc. Todos estos estímulos actúan sobre el odontoblasto, el que, por una respuesta natural de su función específica, responde formando dentina. Como la cámara pulpar ya está delimitada, la nueva dentina se deposita por dentro y disminuye progresivamente su tamaño.

El sitio preferencial de formación depende de la dirección de la cual provienen los estímulos. El espesor, por lo general, es mayor en la cara lingual que en la cara labial de la cámara pulpar en incisivos y caninos, y en los premolares y los molares, a nivel cervical, y tanto en el techo como en el piso de cámara. La dentina secundaria no tiene el mismo aspecto que la primaria. De acuerdo con la intensidad del estímulo puede tener menor o mayor número de conductillos, pero siempre menos que la dentina primaria, con diámetro más pequeño y un recorrido más irregular. ⁽¹⁾

Dentina terciaria

Ante un estímulo más intenso, violento, o prolongado, caries de avance rápido, atrición, erosión, preparación cavitaria, tallados para coronas, exposición pulpar o trasplante dentario, la pulpa responde formando dentina de manera más precipitada para tratar de defenderse de la posible invasión. Esta dentina ha sido denominada dentina terciaria o de reparación. Sus características histológicas difieren de las de la dentina primaria en la forma de los conductillos, que son más tortuosos e irregulares, se hallan en menor número y pueden faltar por completo. Si la dentina terciaria se formó precipitadamente, puede observarse la inclusión de células, vasos o elementos del tejido pulpar.

La dentina terciaria tiene un contenido cálcico similar o mayor que la primaria. Se ha encontrado mayor cantidad de dentina terciaria provocada por caries en dientes temporales que en dientes permanentes. Como consecuencia de la preparación de cavidades, se forma dentina terciaria.

Muchos autores han estudiado este fenómeno al utilizar dientes que decían ser extraídos por causas ortodóncicas preparando cavidades, generalmente de clase V, en las caras labiales, con instrumentos de baja, mediana y alta velocidad. A los 20 días ya se encuentra dentina terciaria en algunos cortes histológicos post-extracción. El pico se alcanza a los 30 o 35 días y luego decrece. Su crecimiento se estima en un promedio de 1,5 um diarios. ⁽¹⁾

El proceso carioso del esmalte involucra reacciones fisico-químicas, donde la estructura mineral se disuelve por ácidos liberados por bacterias cariogénicas. En contraste, la dentina posee menor material inorgánico y abundante material orgánico, alrededor del 20%, el cual está compuesto principalmente de colágeno tipo I. Por lo tanto, el proceso carioso de la dentina difiere en gran parte al del esmalte. Primero, los ácidos bacterianos disuelven el material inorgánico de la dentina, lo que lleva a la exposición de la matriz extracelular (MEC) de la dentina extracelular. Secundariamente, las proteasas degradan componentes de la MEC permitiendo la progresión de la caries hacia los tejidos pulpaes. Esta progresión se ve facilitada por la naturaleza tubular de la dentina

II. Adhesión a Estructura dentinaria

La restauración de lesiones de los tejidos mineralizados de las piezas dentarias implica, en prácticamente todos los casos, la utilización de una técnica que permita colocar un material en contacto con esa estructura. Además, el trabajo técnico debe asegurar que en contacto entre ambas partes –diente y material- se mantenga durante el uso, es decir, no se separen. Esto significa que la técnica debe generar algún mecanismo de adhesión entre ambas. Consideramos la adhesión a cualquier mecanismo que permita que dos partes se mantengan en contacto.

Es conveniente que la adhesión alcanzada no se limite simplemente a evitar el desprendimiento del bloque restaurador. La integración y la continuidad entre la estructura del material restaurador y la estructura dentaria evita la presencia de interfaces en las cuales puedan introducirse componentes del medio bucal; en otras palabras, permite alcanzar el denominado “sellado marginal” en la restauración.

Por otro lado, la integración estructural del material con la sustancia dentaria le permite al conjunto funcional mecánicamente como una unidad. De esta manera, las fuerzas que reciben ambas estructuras son absorbidas conjuntamente. El diente restaurado en estas condiciones mantiene un comportamiento mecánico más cercano al de un diente sano y sus posibilidades de fractura son menores. ⁽¹⁾

Adhesión a dentina

En tejidos dentarios menos calcificados, existen cristales de hidroxiapatita en menor cantidad, no orientados en forma de varillas e incluidos en una trama de fibras colágenas. Al tratar esa superficie con ácido solo se logra eliminar parte de

la hidroxiapatita dejando matriz colágena expuesta. Esta no constituye una superficie tan apropiada como el esmalte para atraer el material restaurador. Además, la estructura dentinaria contiene humedad, especialmente en un diente vital. Lo que la hace incompatible con una sustancia hidrofóbica como los monómeros y oligómeros que constituyen las resinas compuestas usadas para realizar restauraciones. ⁽¹⁾

La cobertura completa de las irregularidades a nivel nano en las fibras colágenas por la penetración pasiva de monómeros puede ser difícil de lograr. Estas irregularidades son causadas por diferencias de altura de 4 a 6 nm entre el espacio de las fibrillas y las zonas de superposición, y las microfibrillas a escala nanométrica en la superficie de colágeno de la dentina. Las microfibrillas son moléculas de colágeno discontinuas de 4 a 5 nm de diámetro. Otra dificultad puede ser los proteoglicanos, los cuales, con sus carbohidratos glicosaminoglicanos envuelven la superficie colágena, reteniendo agua. La habilidad de resinas poliméricas de desplazar por completo el agua de los crevices presentes en las fibrillas colágenas requiere una viscosidad extremadamente baja del material monomérico, y una distribución precisa de los componentes del primer para alterar la energía superficial de la fibrilla. Estos “nanovaciós” pueden ser responsables de facilitar la difusión de moléculas de agua con diámetros de 100 pm, de la dentina hidratada, permitiendo la degradación lenta pero continua de los enlaces tipo éster en los adhesivos poliméricos. ⁽¹⁰⁾

El desarrollo de sistemas adhesivos ha pasado de procesos multipasos (grabado, lavado, secado, primer, adhesivo) a métodos más simplificados, como sistemas autograbantes de un frasco. El agente adhesivo ideal debería ser compatible, debería tener adecuada fuerza de adhesiva y debería unirse a esmalte y dentina. Varios agentes adhesivos se han desarrollado para mejorar la calidad de adhesión de las restauraciones de composite. ⁽¹⁷⁾

Sin embargo, y a pesar de las significativas mejoras en los sistemas adhesivos, éstos no son capaces de prevenir la formación de microgaps en el margen de dentina y restauraciones de resina. Los adhesivos autograbantes han sido populares debido a sus ventajas por sobre los adhesivos de grabado y lavado, incluyendo menos sensibilidad de la técnica, reducción de la sensibilidad post operatoria, y eliminación del paso de grabado, lavado y secado. ⁽¹⁶⁾

Una gran gama de ácidos orgánicos e inorgánicos se han investigado como grabadores, y los gel ácidos de pH cercano a 1 han demostrado que producen los patrones de grabado más confiables. ⁽⁸⁾

Los primers son un ensamblaje de monómeros hidrofílicos y solvente volátiles, generalmente acetona, etanol o agua, los cuales desplazan fluidos de la matriz dentinaria y llevan los monómeros a la red de colágenos desmineralizada. La

microporosidad creada por el grabado ácido se infiltra con adhesivos monoméricos que pretenden rodear y embeber el remanente protéico, generando así adhesión al sustrato dentaria mediante retención micromecánica. En la dentina, la infiltración de la resina adhesiva en la red de colágeno es un proceso denominado hibridación. El resultado de este proceso de difusión se denomina capa híbrida. ⁽⁸⁾

Las resinas adhesivas son generalmente dimetacrilatos oligómeros hidrofóbicos deluidos en monómeros de bajo peso molecular compatibles con los monómeros del primer y de la resina compuesta utilizada para la reconstrucción dentaria. ⁽⁸⁾

Los sistemas adhesivos comerciales se pueden clasificar en dos categorías: autograbantes, y de grabado y lavado. A pesar de la simplificación de los sistemas adhesivos, el sistema de tres pasos de grabado y lavado es el gold standard en términos de durabilidad y fuerza adhesiva. Los adhesivos de grabado y lavado utilizan ácido fosfórico para demineralizar el sustrato dental y remover la smear layer, dejando una red colágena expuesta. La dentina demineralizada tiene dos tipos de porosidad: túbulos, y una red colágena. La caracterización de esta porosidad es crucial para predecir la eficiencia en la adhesión. ⁽¹¹⁾

Muchos adhesivos dentales combinan monómeros hidrofílicos e hidrófobos en un mismo frasco. Los grupos hidrofílicos potencian la humectabilidad al tejido duro dental; los grupos hidrófobos interactúan y copolimerizan con el material restaurador. Ya que la dentina vital es intrínsecamente húmeda, es virtualmente imposible secarla completamente en una situación clínica. Consecuentemente, los fabricantes han desarrollado adhesivos dentinarios que sean compatibles con ambientes húmedos. ⁽⁹⁾

El agua juega un rol importante en la degradación hidrolítica parcial de los adhesivos poliméricos, disminuyendo sus propiedades físicas. La absorción de agua conlleva a la plastización del adhesivo, resultando en fuerzas adhesivas disminuidas. Por ejemplo, el 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) sufre una declinación en sus propiedades físicas a las 24 horas como resultado de sorción acuosa después de la polimerización y extracción de monómeros solubles que no reaccionaron. Adicionalmente, el porcentaje de agua en la solución del adhesivo influye el grado de conversión de la mezcla del bisfenol glicidil metacrilato A (BisGMA)/HEMA a medida que se someten a separación de fases con el aumento del contenido de agua. ⁽⁹⁾

La técnica de “adhesión húmeda” con adhesivos de grabado y lavado ha demostrado en estudios in vitro, que mejora la fuerza de unión adhesiva ya que el agua mantiene la porosidad de la matriz colágena disponible para la difusión de monómeros. ⁽⁹⁾

Aunque la presencia de agua es esencial en las primeras etapas de infiltración de resina, su presencia en los espacios interfibrilares de la matriz colágena podría

desencadenar no solo la hidrólisis de resinas de matriz por parte de las esterasas, pero la hidrólisis de colágeno por enzimas colagenolíticas y gelatenuolíticas endógenas y exógenas. El agua residual en la matriz colágena podría también llevar a la separación de la fase adhesiva en la interfase dentina-resina, la cual debilita los polímeros en la capa híbrida, dejándola más susceptible a la degradación enzimática. ⁽⁹⁾

Adhesivos autograbantes

Se ha reportado que los adhesivos autograbantes producen una demineralización e infiltración simultánea del sustrato dentinario. Sin embargo, la infiltración incompleta de la dentina por adhesivos autograbantes ocurre cuando poseen ácidos con potencial de grabado reducido del monómero hacia la base de la capa híbrida. Los adhesivos auto-grabantes son altamente hidrofílicos, por lo tanto atraen agua, lo que podría aumentar el potencial de degradación, ya que la sorción de agua de adhesivos de resina es proporcional a sus características hidrofílicas. La habilidad autograbante de los primers autograbantes se consigue por la incorporación de agua suficiente para la ionización adecuada de los monómeros ácidos sin disminuir su concentración a un umbral que comprometa su eficacia. ⁽⁹⁾

El agua es un ingrediente importante por que ioniza los grupos ácidos, permitiendo la formación de iones hidronio (H_3O^+), que graban la hidroxiapatita. El agua también facilita la solubilización de productos que resultan del proceso de grabado. Los adhesivos autograbantes generalmente contienen un 30-40% de agua. Los adhesivos autograbantes de un paso absorben y retienen agua a través de enlaces de hidrógeno, cuando se aplican a dentina hidratada, comportándose como membranas semipermeables. Incluso después de la polimerización, estos adhesivos permiten el movimiento de agua y fluidos de la dentina intertubular y desde los túbulos dentinarios. Este flujo de agua es responsable por un intrincado patrón de canales de agua en la capa adhesiva conocida como árboles de agua, los que también pueden observarse en adhesivos de dos pasos de grabado y lavado. El agua que migra a la interfase adhesivo/resina quedará atrapada por una capa de composite hidrófobo, formando burbujas de agua. Estas burbujas de agua tienen un rol perjudicial, ya que generan una alteración mecánica en la unión del adhesivo con el composite. La permeabilidad del agua y la formación de burbujas también pueden ocurrir en composites curados por luz cuando se usa adhesivos de autograbado de un paso en dentina hidratada, y hay un retraso en la polimerización por luz de la resina compuesta. ⁽⁹⁾

III. Proteínas dentinarias de matriz

La matriz extracelular (ECM) dentinaria consiste en una estructura 3D que esta formada principalmente por fibras colágeno tipo I (90%). Las fibras tipo III y V también se pueden identificar en niveles menores de esta estructura. En el polo apical del odontoblasto se secretan fibrillas delgadas de colágeno para formar la predentina. Las fibrillas de colágeno pasan por un proceso de fibrilogénesis a lo largo de la predentina mediante procesos de autoensamblaje y reticulación para formar una matriz que se pueda mineralizar eficientemente. Las proteínas no colágeno (NCPs) constituyen el otro 10% de la estructura 3D. Se ha sugerido que algunas NCPs están asociadas a sitios específicos en las fibrillas de colágeno para regular la nucleación y crecimiento de los cristales de hidroxiapatita. La importancia de las NCPs en el proceso de mineralización se ha demostrado mediante estudios de mutación y de supresión de los genes de las NCP. Estos experimentos han destacado la importancia de las Glicoproteínas ligadas a N-ligando (SIBLINGs), una familia de fosfoproteínas cuya mutación esta asociada a fenotipos anormales de mineralización ósea y dentinaria. Esta familia incluye las sialofosfoproteínas dentinarias (DSPP), proteína de matriz dentinaria tipo 1 (DMP1), sialoproteína ósea (BSP), glicoproteína fosforilada de matriz extracelular (MEPE), y osteopontina (OPN). Pareciera que la asociación de estas NCPs altamente fosforiladas y ácidas con sitios específicos en las moléculas de colágeno, son esenciales en la promoción de la nucleación y crecimiento de los cristales de apatita. Además de unirse a integrinas, SIBLINGs podrían también unirse específicamente y activar varios tipos de MMPs en la matriz extracelular, sugiriendo que pueden estar involucradas en la degradación de la matriz.

La dentina contiene proteínas no fosforiladas, como la osteonectina y proteínas con residuos de glutamatos gamma-carboxilados. La osteonectina podría contribuir a el proceso de mineralización, se ha sugerido que la osteocalcina y MGP regulan la nucleación de cristales de hidroxiapatita. La dentina también contiene la glicoproteína alfa-2-Hermans Schmid (AHSG), una proteína de suero conocida como fetuina-A, la cual se produce en el hígado y se concentra en tejidos mineralizados, especialmente dentina ya que tiene alta afinidad por la hidroxiapatita. La fetuina-A puede controlar la actividad de las MMP-2 y 9, tanto como función inhibidora, activadora o estabilizadora de estas enzimas, dependiendo de la forma de esta. ⁽⁷⁾

MMPs en dentina no cariada

Se cree que las MMPs juegan un rol importante en la remodelación de la matriz que ocurre durante la dentinogenesis. Las MMPs son una familia de enzimas

dependientes de Zinc y Calcio, que regulan el metabolismo fisiológico y patológico de tejidos colágenos. ⁽¹²⁾

Las principales MMPs identificadas en pulpa, odontoblastos y en los compartimientos de dentina/predentina son las colagenasas MMP-8, la gelatinasa MMP-2 y MMP-9, MMP-3, el activador de MMP-2 MMP-14, MMP-13 y enamelisina (MMP-20). Los inhibidores endógenos TIMPs también se detectan, sin embargo a un nivel mas bajo de expresión. La expresión de MMP-2, la MMP predominante en dentina sana, aumenta gradualmente desde el comienzo de la dentinogenesis hasta alcanzar su máxima expresión al día 6-7 post natal. Se piensa que la MMP-2 juega un rol fundamental en la degradación de la membrana basal, lo que permite un contacto directo entre el epitelio y el tejido mesenquimático, un prerrequisito para la citodiferenciación terminal de odontoblastos y ameloblastos. En estados mas avanzados de la dentinogénesis, se ha observado que las MMP-2 y MMP-9 se localizan cerca de la unión amelodentinaria. Importantemente, MMP-2 fue aislada de matriz dentinaria humana madura, sugiriendo un potente rol en la degradación de la ECM dentinaria durante el proceso de caries. La MMP-3 se ha identificado en predentina, donde se propone que participa en el proceso de mineralización degradando CS/DS (PG), y en dentina intertubular, a lo largo de las fibras de colágeno. Estudios han demostrado que esta enzima se encuentra en forma activa en dentina desmineralizada, lo cual implica que tiene el potencial de degradar y desorganizar la matriz dentinaria. Cuando está activa, la MMP-3 es capaz de clivar de la matriz de colágeno, varias proteínas de matriz como decorina, biglicano, y miembros de la familia SIBLING. La liberación de PG por la MMP-3 podría resultar en liberación de citoquinas, las cuales podrían activar otras MMPs, potenciando así, la degradación y desmineralización de la matriz. ⁽⁷⁾

Posibles mecanismos de activación de MMPs en dentina cariada

Las MMPs son secretadas a la matriz extracelular como proenzimas inactivas, las cuales requieren activación para poder degradar los componentes de la matriz. Durante el proceso de caries, el ambiente ácido creado por la liberación de bacteriana puede favorecer la activación de MMPs endógenas. Se ha sugerido que el bajo pH produce un cambio conformacional en el dominio péptido de la enzima, lo que facilita el cambio de cisteína, un paso crítico en el proceso de activación. Sin embargo, aunque los MMPs activados son estables en medio ácidos, solo pueden ser funcionales en pH neutro. La neutralización de los ácidos se puede lograr por mecanismos buffer de la saliva, permitiendo que las MMPs activadas degraden componentes de la matriz. En adición, las proteínas fosforiladas que se han liberado de la matriz colágena por nacidos bacterianos, podría interactuar con MMPs que han sido inhibidas por TIMPs, y reactivarlas. Otra familia de enzimas fueron identificadas en dentina, las cisteínas catepsinas.

Se sugiere que estas enzimas, al estar activas, pueden activar MMPs latentes. Adicionalmente, la dentina cariada mostró un aumento en la actividad de las cisteínas catepsinas, siendo ésta aún mayor en exposiciones pulpares. ⁽⁷⁾

Degradación de la matriz dentinaria en el proceso de caries

Se ha observado que las MMPs derivadas de la dentina o saliva son capaces de degradar matriz dentinaria, una vez han sido activadas por ácidos bacterianos. La saliva contiene numerosas MMPs incluyendo colagenasas y gelatinasas derivadas del fluido crevicular o la secreción de glándulas salivales, siendo la MMP-9 la más abundante ya que viene de ambas fuentes. También se encontraron formas latentes y activas de MMP-3, MMP-2 y MMP-8. ⁽⁷⁾

Inhibidores de MMP para el tratamiento de caries dentinaria

Considerando el rol potencia de las MMPs en la degradación de la ECM dentinaria, pareciera lógico que, al estar asociado a un minucioso control de caries, la inhibición de las MMPs ayudarían a controlar la progresión de la caries. Se han descrito varios inhibidores de las MMPs, como la tetraciclina y sus derivados, doxiciclina y minociclina. El zoledronato es un bifosfonato de tercera generación con la habilidad de inhibir la actividad proteolítica de las MMPs. El inhibidor de MMPs deberían ser preferentemente administrados de forma local en el tratamiento de caries, ya sea incorporándolos en preparaciones tópicas de uso diario o aplicándolas directamente sobre la superficie dentinaria, dependiendo de la situación clínica. La acción inhibitoria de las MMPs comúnmente usado esta basada en sus grupos quelantes de zinc/calcio, ya que las MMPs requieren estos iones metálicos para sus actividades catalíticas. Entre ellos se encuentra el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), un quelante de zinc y calcio que inhibe las MMPs activadas por ácidos al ser aplicada por 1 minuto con una concentración de 17%. El gluconato de clorhexidina (CHX) también es un potente inhibidor de las MMPs mediante un efecto quelante de calcio. También se ha demostrado que la CHX es un potente inhibidor de las enzimas cisteínas catepsinas. Otro grupo de inhibidores de las MMPs son derivados de fuentes naturales, especialmente polifenoles del te verde. ⁽⁷⁾

Enzimas cisteínas catepsinas

Las proteasas lisosomales cisteínas pertenecen al clan A de las proteasas tipo cisteínas; son miembros de la familia C1 de enzimas tipo papain, la familia de peptidasas más numerosa y la más caracterizada. Hay 11 cisteínas catepsinas humanas, B, C, F, H, K, L, O, S, V, X y W. Las catepsinas B, H, L, C, X, F, O y V

se expresan únicamente en tejidos humanos, mientras que las catepsinas K, W y S son tejido-específicas. Son biosintetizadas en la vía secretora como zimógenos inactivos, éstos zimógenos son procesados a su forma activa mediante proteasas o de forma autocatalítica. Este tipo de activación se acelera sustancialmente en presencia de polisacáridos aniónicos como glucosaminoglicanos y dextran sulfato. Las cisteínas catepsinas se encuentran de forma activa y estable en pH ligeramente ácidos, e inestables en pH neutro. Se pueden inactivar de forma irreversibles en pH neutro, excepto la catepsina S, la cual es estable en pH neutro o levemente alcalino. La catepsina B tiene principalmente actividad de peptidasa y carboipeptidasa. Por otro lado, la actividad de endopeptidasa de la catepsina B es óptima en pH cercano a 7,4. La actividad de cisteínas catepsinas ha sido demostrada en dentina sana y cariada, y la catepsina B ha sido localizada en tubulos dentinarios. Una vez sintetizadas por el odontoblasto y/ tejido pulpar, las catepsinas secretadas pueden alcanzar fácilmente los túbulos dentinarios y entrar en la dentina profunda. Además, los cambios en los niveles de expresión, localización y actividad se han descrito en dentina cariada. El aumento significativo de la actividad de cisteínas catepsinas en dentina cariada al aumentar en profundidad, indica que estas enzimas derivadas de odontoblastos y/o tejido pulpar juega un rol importante en lesiones de caries activas. ⁽¹⁰⁾

IV. MMPs y cisteínas catepsinas, y su rol en la capa híbrida

Por mucho tiempo se asumió que la matriz orgánica de la dentina es degradada por proteasas secretadas por bacterias cariogénicas. Sin embargo, las colagenasas bacterianas son altamente sensibles y no resisten una caída de pH menos a 4.3, sugiriendo que la contribución de estas enzimas en la degradación de la matriz es limitada. Por lo tanto, se ha introducido el rol potencial de degradación de la matriz, de proteasas derivadas del organismo y en particular las metaloproteinasas (MMPs). Las MMPs son parte de una familia de proteasas de matriz involucradas en eventos normales y patológicos de casi todos los tejidos del organismo, incluyendo el diente. Casi todas las MMPs comparten una secuencia común de dominio incluyendo un péptido de señal, el dominio pro-péptido con un residuo de cisteína, el dominio catalítico que contiene iones de zinc y el dominio C-terminal. La homología de estructura y la especificidad del sustrato divide a las MMPs en 6 grupos diferentes incluyendo: colagenasas (MMP-1, MMP-8 y MMP-13), gelatinasas (MMP-2 y MMP-9), estromelinas (MMP-3, 10 y 11), matrilisinas (MMP-7 y 26), MMP tipo membrana (MMP-14-17, 24 y 25), y otras (MMP-12, 20, 21, 23, 27 y 28). ⁽¹⁴⁾

Las MMPs tiene propiedades y características específicas, incluyendo la habilidad de clivar componentes de la matriz, su dependencia en iones zinc para ser activadas, requieren ser activadas por clivaje de un prodominio, la conservación

de un grupo amino específico entre miembros de una misma familia, y la inhibición de su actividad enzimática por inhibidores de metaloproteinasas endógenas de tejido (TIMPs). Numerosos estudios han demostrado actividad enzimática proteolítica endógena en la dentina, incluyendo a la MMP-2, MMP-9 y MMP-3, las cuales se ha demostrado son necesarias para la formación normal de dentina. Una vez la neo formación de la matriz dentinaria se mineraliza, algunas de estas enzimas quedan atrapadas en la matriz calcificada, ya sea de forma activa o en forma de pro enzima. ⁽⁷⁾

La liberación y consecuente activación de estas enzimas endógenas durante los tratamientos dentales restaurativos, pueden ser responsables del fracaso de la unión dentina-adhesivo. Sin importar cual procedimiento adhesivo se aplique, el resultado es a menudo una incompleta hibridación de la dentina superficial, por lo que quedan fibras colágeno desprotegidas de factores que promueven la degradación hidrolítica, como residuos del solvente del adhesivo, o agua que no se ha removido de la superficie dentinaria. ⁽⁸⁾

Evidencia de actividad colagenolítica y gelatinolítica en dentina parcialmente desmineralizada tratada con adhesivos autograbantes o de grabado y lavado confirma el potencial rol de estas endoproteasas en la disrupción y la incompleta infiltración de resina en las fibrillas de colágeno en la capa híbrida. Se conoce que las MMPs puede ser activadas en ambientes de bajo pH por inducción del “cysteine switch”, y que ambos tipos de sistemas adhesivos descritos anteriormente probablemente contribuyan al proceso de activación debido a su acidez. ⁽¹²⁾

Una vez activada, las proteasas dentinarias clivan los segmentos helicoidales y segmentos de telopéptidos de la matriz colágena que se solubilizan lentamente. El pH óptimo para la actividad de MMPs es cercano a 7,4; mientras que para la catepsina K es 5. ⁽¹³⁾

Los monómeros de resina acídicos podrían activar formas latentes de MMPs por medio del mecanismo de “cysteine switch” que expone los dominios catalíticos de estas enzimas que estaban bloqueadas por pro-péptidos. La catepsina B, una de las mas prevalentes en odontoblastos y tejido pulpar ha demostrado estar involucrada en la activación de MMP-1. Por lo tanto, es muy probable que, durante la aplicación de monómeros acídicos, no sólo las MMPs pero también las cisteínas catepsinas son activadas, lo que podría, a su vez, representar la potencial interacción de MMPs-catepsinas en la degradación del colágeno de la capa híbrida. ⁽¹²⁾

TIMPs son inhibidores específicos de matrixinas que participan en controlar la actividad local de MMPs en los tejidos. La mayoría de los TIMPs inhiben MMPs activas, y algunos previenen su activación. Se ha identificado a TIMP-1 en dentina radicular. Por lo tanto, es posible que grabadores ácido y monómeros acídicos en

los agentes adhesivos a dentina podrían jugar un rol en la activación de MMP-2 y -9, removiendo TIMP-1 y 2 de su unión a MMPs ⁽¹²⁾

Las Cisteínas catepsinas son otro tipo de endopeptidasas capaces de degradar proteínas de la matriz extracelular como colágeno tipo I y III. Catepsina B y L clivan la el telopéptido de extensión no helicoidal de las moléculas de colágeno, mientras que la catepsina K cliva colágeno en múltiples regiones de triple hélice. A diferencia de las MMPs, que clivan al colágeno tipo I en un solo sitio, generando dos fragmentos, uno largo N-terminal y uno corto C-terminal, la catepsina K puede clivar el colágeno en múltiples sitios generando múltiples fragmentos de diferentes tamaños. La expresión de cisteínas catepsinas por odontoblastos maduros y la presencia de actividad de catepsinas en dentina se ha demostrado recientemente. Similar a las MMPs, las catepsinas también puede ser activadas cuando son expuestas a medios ácidos. ⁽¹⁴⁾

Hallazgos

I. Sistemas Adhesivos

Los agentes adhesivos de 6^a generación consisten en un primer ácido y por separado un agente de unión resinoso, mientras que los adhesivos de 7^a generación son de autograbado con combinaciones de grabadores, primers y adhesivo en un componente que se aplica en un paso. Estudios han observado una menor fuerza adhesiva en estos sistemas, la cual puede deberse a que posee menor cantidad de monómeros y son mas hidrofílicos que los de 6^a generación. Esto se traduce a una menor resistencia mecánica por que el agua evaporada de la dentina pasa rápidamente al adhesivo. Sin embargo, otros estudios muestran que adhesivos de 8^a generación tienen mejor resistencia a la tracción comparado con adhesivos de 6^a y 7^a generación. ⁽¹⁷⁾

En cuanto a el efecto de los sistemas adhesivos en la activación de enzimas endógenas, un estudio ha observado que si bien la dentina grabada con ácido fosfórico demuestra baja actividad de MMPs, al ser tratada con adhesivos, éstas pasan por un proceso de reactivación. ⁽²⁵⁾

Otro estudio demostró los diferentes cambios en la actividad enzimática de MMP-2 y 9 después de la aplicación de adhesivos de grabado y lavado. Se obtuvo evidencia directa de la actividad de gelatinasas en dentina grabada, siendo que otros estudios demostraban actividad solo después a la exposición de adhesivos. Es decir, hay un aumento en la actividad de las MMP-2 y 9 luego de la aplicación de adhesivo, sin importar si se utiliza un sistema auto adhesivo y de grabado y lavado. ⁽²⁴⁾

II. Inhibidores de actividad proteolítica y su efecto en la fuerza adhesiva

Clorhexidina

Es una bisguanida catiónica de amplio espectro antimicrobiano, la cual se ha utilizado extensivamente en terapias periodontales y endodónticas. Sus efectos bacteriostáticos y bactericida dependen de su concentración. En el campo de la adhesión dental, fue primeramente utilizada como desinfectante y agente de humectación previo a la aplicación de la resina adhesiva ya que su uso no afectaba la fuerza adhesiva inmediata. Desde que se demostró la inhibición de MMPs con el uso de clorhexidina, una serie de estudios muestran su eficacia en preservación de la capa híbrida ⁽¹⁴⁾. Recientemente se demostró que también es un potente inhibidor de la actividad de cisteínas catépsinas, lo que podría contribuir a su efecto de preservación de la capa híbrida ⁽¹⁹⁾. La clorhexidina se une a la dentina grabada donde se libera lentamente en el tiempo, ejerciendo sus beneficios anti proteolíticos. También se ha demostrado que es un potente inhibidor específico de MMP-2, 9 y 8. ⁽¹⁴⁾ Un número de estudios in vitro evaluaron la aplicación de una concentración de 0,2% y 2%, siendo la aplicación al 2% por un minuto a la dentina grabada adoptada como protocolo clínico para reducir la degradación de la unión dentina-resina ⁽¹⁴⁾. A esta concentración se logró mantener la fuerza adhesiva a largo plazo ⁽²¹⁾. Sin embargo, otro estudio demuestra que la aplicación de clorhexidina a 0,2% o 2% disminuyen la pérdida la fuerza adhesiva a largo plazo, mostrando efectos beneficiosos en la estabilidad de la adhesión a dentina ⁽²⁰⁾. A las concentraciones usadas, el mecanismo inhibitorio ocurre vía quelación de cationes. El secuestro de iones de calcio y zinc obstaculiza la activación del dominio catalítico de las MMPs. La naturaleza de la interacción entre clorhexidina y la matriz dentinaria está basada en fuerzas electrostáticas entre amonios protonados en la molécula de clorhexidina y grupos carboxilos o alcoholes cargados negativamente en dentina. Este mecanismo pareciera ser dependiente de la saturación de dentina con clorhexidina. Cuando se aplica una concentración mayor, la clorhexidina podría sobresaturar los sitios de unión enzimática y permanecer unida al colágeno para ser liberada posteriormente. Por su naturaleza catiónica, la clorhexidina puede unirse a superficies cubiertas por proteínas ácidas y ser liberada en niveles terapéuticos, un fenómeno conocido como sustentabilidad, el cual permite que la clorhexidina permanezca activa luego de la aplicación inicial. ⁽¹⁴⁾ sin embargo hay estudios que postulan que luego de 18 a 24 meses, la clorhexidina podría desalojarse de la capa híbrida ⁽²³⁾⁽¹⁶⁾.

Otro factor que puede influenciar la eficacia de la clorhexidina en la fuerza adhesiva entre dentina y adhesivo es el tipo de solución aplicada. Se ha

demostrado que el pretratamiento de dentina con clorhexidina en base a etanol tuvo un efecto negativo en la adhesión con un sistema autograbante de un paso, sin embargo, una solución de clorhexidina en base a agua mostró estabilidad de adhesión bajo simulación de presión intrapulpar. ⁽²²⁾

Otro estudio ha reportado que cuando la clorhexidina se aplica a superficies dentinarias cubiertas de smear layer, es más probable que se une a remanentes de apatita sueltos en la smear layer, a diferencia de si es aplicado a dentina grabada donde los grupos fosforatos son depletados debido al grabado ácido y posterior lavado. La unión de la clorhexidina a estas apatitas sueltas superficiales podría interferir con las funciones de los monómeros del primer ⁽¹⁸⁾.

EDTA

Es sabido que las MMPs requieren calcio para mantener su estructura terciaria e iones zinc para su actividad catalítica de hidrolasa. ⁽²³⁾

Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), es un quelante de metales divalente que inhibe la actividad de las MMPs por remoción de iones de calcio de la estructura tridimensional del colágeno y quelando los iones de zinc en el dominio catalítico de las MMPs. ⁽¹⁴⁾ Es por esto que comúnmente se utilizan 2 a 10 mM de EDTA como inhibidor no específico de MMPs en varios estudios de laboratorio. ⁽²³⁾

Un estudio muestra que una concentración de 17% de EDTA inhibe significativamente la actividad endógena de MMPs en dentina humana, al ser aplicado por 1-2 minutos, lo que podría minimizar la degradación de la capa híbrida después de realizar los procedimientos adhesivos. ⁽¹⁹⁾

Incluso cuando este procedimiento es factible en el tratamiento endodóntico donde el objetivo principal del EDTA es la remoción de la smear layer previo a la obturación, el tiempo necesario para su aplicación para propósitos adhesivos limita su uso clínico. ⁽²³⁾

Compuestos de amonio cuaternario

Otro grupo de agentes antimicrobianos, los compuestos de amonio cuaternario (QACs), son también catiónicos y pueden unirse a fosfatos cargados negativamente y grupos carboxilos en la hidroxiapatita y colágeno respectivamente. Si bien la clorhexidina tiene dos cargas fijas, la mayoría de los QACs tienen sólo una carga positiva. Ya que son moléculas catiónicas con propiedades antimicrobianas, se ha especulado que tienen propiedades anti MMPs similares a la clorhexidina. Como en las bisguaninas, grupos NH₃⁺ cargados positivamente se unen a grupos fosfato de la hidroxiapatita cargada negativamente o grupos carboxilos en esmalte y dentina respectivamente,

induciendo cambios conformacionales que bloquean el sitio activo de las proteasas endógenas manteniéndolas en su forma inactiva. La naturaleza de estas interacciones electrostáticas es, sin embargo, débil. Las QACs son moléculas solubles en agua y se podrían desprender de la interfase adhesiva, perdiendo su capacidad anti-proteolítica en el tiempo. (14)

Un monómero antibacterial de esta familia, el MDPB ha demostrado tener un potente efecto antibacterial cuando se incorpora al primer de dentina. Las ventajas en el tiempo es que el MDPB se puede copolimerizar con los monómeros del adhesivo. (16)

El cloruro de benzalkonio (BAC) posee cadenas alcalinas de diferentes tamaños, tiene un agente catiónico con un grupo de amonio cuaternario con actividad antimicrobiana de amplio espectro. Estudios recientes han demostrado que inhiben efectivamente MMPs dentinarias con esos compuestos de amonio cuaternario. Una vez que se lleva a cabo la polimerización, BAC no debería desalojarse de la capa híbrida, permitiendo la sustentabilidad de sus beneficios anti proteolíticos, menor absorción de agua y por lo tanto menor degradación hidrolítica. La aplicación de BAC en concentraciones de 0,5% y 1% por 60 segundos inactiva la actividad de MMPs en un 31 y 54% respectivamente. ⁽²⁸⁾

Metacrilatos y sales de zinc

Como mencionamos previamente, las MMPs requieren de calcio y zinc para mantener su estructura terciaria y función. El zinc ha demostrado ser efectivo en la reducción de la degradación de colágeno mediada por MMPs, se ha observado su efecto inhibitor en las MMPs-2 y 9. Si embargo el $ZnCl_2$ redujo la fuerza traccional de algunos sistemas adhesivos. El zinc tiene mejor poder inhibitor que la clorhexidina al unirse a los péptido de MMPs generando una mayor estabilidad molecular pero menor capacidad enzimática. El zinc también se une al colágeno, lo que permite su liberación en el tiempo. ⁽¹⁴⁾

Alcoholes

No hay muchos estudios sobre el efecto de diferentes alcoholes en la inhibición de proteasas endógenas en dentina. Como hidrolasas, las MMPs requieren agua para su actividad proteolítica. Los inhibidores comúnmente utilizados como la clorhexidina utilizan agua como vehículo para llegar a la interfase adhesiva, lo que aumenta el contenido de agua en la capa híbrida. El HEMA, un monómero hidrosoluble presente en casi todos los adhesivos dentales, puede ser considerado como un alcohol. Se ha demostrado que posee grandes capacidades inhibitorias de MMP-2 y 9. Se ha especulado que la combinación de de oxígeno del grupo hidroxil del HRMA con cationes Zn^{2+} del dominio catalítico de MMP-2

podría resultar en una inhibición reversible de la enzima. ⁽¹⁴⁾

Familia de las tetraciclinas

Son una familia de antibióticos de amplio espectro. La tetraciclina y su análogo semi-sintético doxiciclina y miociclina han reportado tener una función inhibidora en las MMPs. Además de su función quelante de Zn, pueden regular la expresión de RNA mensajero de las MMPs, intervenir con el procesamiento proteico durante su activación, y hacerlas más susceptibles a la degradación. ⁽¹⁴⁾

El pre-tratamiento de la superficie dentinaria con soluciones de 2% de doxiciclina puede inhibir la acción de colagenasas y gelatinasas, mejorando la adhesión dental. La doxiciclina no se puede usar con sistemas adhesivos en base a acetona ya que se observó una disminución de los valores en la fuerza adhesiva, así como mayor penetración de nitratos de plata en la capa híbrida. ⁽¹⁹⁾

Las tetraciclinas modificadas químicamente (CMTs) pierden su actividad antibacteriana pero retienen su capacidad inhibitoria de MMPs. CMT-3 es una de las más potentes contra las colagenasas, pero también contra las gelatinasas. ⁽²³⁾

Derivados de bifosfonatos

Son una clase de inhibidores de amplio espectro de proteasas. Se presume que actúan quelando iones calcio y zinc de las enzimas. Similar a la clorhexidina, el ácido polivinilfosfónico se une electrostáticamente al colágeno, sin embargo su uso puede ser más beneficioso como inhibidor de MMPs ya que puede quedar capturado en la matriz colágena. Esto sugiere que su uso podría aumentar la longevidad de la unión dentina-resina. ⁽¹⁴⁾

Ya que los fosfonatos contienen enlaces metabólicos R-C-P altamente estables en vez de los enlaces R-O-P de los fosfatos, dosis únicas pueden durar un largo tiempo. ⁽²³⁾

Inhibidores de sustancias naturales

En años recientes, el potencial inhibitorio de MMPs de sustancias derivadas de productos naturales ha ganado considerable atención. *A. Barbadosis miller* (aloe vera) es una hierba parecida al cactus con potentes propiedades antibacteriales, antifúngicas y antivirales. Recientes estudios han revelado que la aloe vera presenta efectos inhibitorios contra las MMP-2 y 9. ⁽¹⁵⁾

El propóleo es una compleja mezcla de sustancias que las abejas almacenan en sus colmenas. Tiene propiedades antiinflamatorias, antisépticas y antimicrobianas. Sin embargo en un estudio realizado en conjunto a un sistema adhesivo autograbante, el uso de propóleo no demostró diferencia alguna con el grupo

control. ⁽¹⁸⁾

Agentes de reticulación

Otra estrategia que se está investigando es reducir la degradación de colágeno de la capa híbrida aumentando la reticulación de las fibrillas de colágeno previo a la aplicación de adhesivo. Al aumentar la reticulación del colágeno, se pueden mejorar las propiedades físicas de la dentina, otorgando mayor resistencia a la degradación por proteasas endógenas.

Algunos agentes de reticulación como la carbodiimida tiene grandes ventajas por sobre los inhibidores inespecíficos o específicos. Los agentes de reticulación no sólo pueden cross-link sitios activos de enzimas, pero también de moléculas de colágeno, endureciéndolas al punto de que no puedan desenrollarse cuando la colagenasa quiera unirse a ella. Una segunda ventaja de estos agentes es que cross-link todas las MMPs, cisteínas cathepsinas y otras enzimas de la matriz de forma simultánea. Una tercera ventaja es que estos compuestos pueden unir proteasas mediante enlaces covalente a los componentes de la matriz. Tanto MMPs como cathepsinas se unen a la matriz mediante enlaces de hidrógeno débiles. Si las proteasas endógenas de la dentina se pueden unir de forma covalente a la matriz, nunca se solubilizarán ni difundirán en la matriz para degradarla, es decir, podrían quedar inactivas por siempre. ⁽¹⁴⁾

El uso de proantocianidina (PA), glutaraldehído, riboflavina y carbodiimida has sido propuestos para mejorar la estabilidad mecánica y estructural del colágeno dentinario, llevando a una matriz estable que, luego de la infiltración de resina, debería producir una capa híbrida duradera. ⁽²⁶⁾

Un estudio evaluó el efecto inhibitorio de la PA en las proteasas de la matriz. La PA inactivó más del 90% de las MMP-2, -8 y -9 solubles y alrededor de un 75-90% de cisteínas cathepsinas B y K, lo cual fue significativamente mayor que la clorhexidina ($P < 0.05$). ⁽²⁷⁾

Resultados

De los estudios que evaluaron resistencia adhesiva micro traccional al utilizar diferentes inhibidores de MMPs, se obtuvieron los siguientes resultados.

<u>Paper</u>	<u>Prueba de resistencia adhesiva</u>	<u>Inhibidor de MMP</u>	<u>Reducción en la fuerza adhesiva inmediata</u>
Sabatini et al 2015	Micro tracción uTBS	BAC 0,5% BAC 1% BAC 2%	30,6 MPa 31,3 MPa 29,1 MPa

Oznurhan et al 2017	Micro tracción uTBS	CHX 2% Propoleo 30%	7,58 % 7,42 %
Carvalho et al 2015	Micro tracción uTBS	CHX 2% Te verde	23 MPa 35 MPa
Liu et al 2014	Micro tracción uTBS	CHX 2% PA 10% PA 15%	23,9 MPa 26,13 MPa 29,6 MPa

Tabla II. Resultados de pruebas de resistencia adhesiva

Discusión y conclusión

Esta revisión muestra que el uso de inhibidores de las MMPs promueven diferentes efectos en los valores de fuerza adhesiva a dentina. Algunos estudios in vitro muestran que los inhibidores de MMP, especialmente la clorhexidina, son capaces de aumentar la estabilidad de la unión resina dentina.

El rol de las MMPs en la adhesión a dentina no está completamente descifrado. Hay variados problemas que todavía necesitan respuesta:

- Las MMP-2 y MMP-9 son gelatinasas que son incapaces de degradar fibras de colágeno de forma directa, por lo que el primer paso debe originarse de otros mecanismos.
- Las MMP no inhiben la degradación de interfaces adhesivas formadas por adhesivos autograbantes
- La preservación de la capa híbrida puede suceder en ausencia de inhibidores de MMPs
- Si bien la fuerza adhesiva inmediata aumenta con el uso de inhibidores de MMP, esta no es estable en el tiempo
- La clorhexidina no elimina agua de la interfase adhesiva y no previene la hidrólisis de la capa adhesiva sobre la superficie rica en agua de la capa híbrida
- La Clorhexidina se desprende de la interfase adhesivo/dentina lo que disminuye su concentración en el tiempo.

Futuros estudios deberían enfocarse en el tipo de sistema adhesivo y su influencia en la acción de los inhibidores de MMPs.

Una alternativa a la inhibición selectiva de MMPs en adhesión a dentina sería aprovechar la gran cantidad de inhibidores exógenos presentes y combinarlos con primers altamente específicos. Al remineralizar la matriz colágena rica en agua en la capa híbrida, la inmovilización de MMPs se podría lograr de una forma análoga a como ocurre durante la mineralización de tejidos duros.⁽⁹⁾ También se debe estudiar el uso de otros métodos para remover el agua residual de la capa híbrida.

Si bien se conoce en gran medida la función de las MMPs en la degradación de la capa híbrida, no se han encontrado soluciones inhibitoras que perduren en el

tiempo o inhiban permanentemente la acción de éstas, de forma de preservar la unión dentina/resina en el tiempo.

Resumen

La integridad de la interface adhesiva en el tiempo es una problemática aún no resuelta en la Odontología adhesiva. El objetivo de este trabajo es recopilar la evidencia científica que existe respecto a las soluciones desinfectantes/surfactantes/desproteinizantes que buscan mantener la integridad de la interface adhesiva, mediante la inhibición de metaloproteinasas (MMPs) endógenas, sin perjuicio en la fuerza adhesiva, la cual se evalúa mediante pruebas de resistencia traccional.

Se ha realizado una revisión sistemática de artículos científicos consultando las bases de datos de MedLine y The Cochranre Library, con restricción de fecha con antigüedad máxima de 5 años, en los idiomas español e inglés. Se ha incluido literatura gris mediante búsqueda manual. Se han revisado los abstracts y artículos completos, teniéndose en cuenta los artículos que evaluaban la resistencia traccional en restauraciones de resina compuesta. Se han seleccionado 30 artículos.

Esta revisión muestra que el uso de inhibidores de las MMPs promueven diferentes efectos en los valores de fuerza adhesiva a dentina. Si bien se conoce en gran medida la función de las MMPs en la degradación de la capa híbrida, su rol en la adhesión a dentina no esta completamente descifrado. No se han encontrado soluciones inhibitoras que perduren en el tiempo o inhiban permanentemente la acción de las MMPs, para preservar la unión dentina/resina en el tiempo.

Palabras claves: desinfectantes cavitarios, capa híbrida, metaloproteinasas, fuerza adhesiva

The integrity of the adhesive interface over time is a problem not yet solved in adhesive dentistry. The aim of this study is to compile the scientific evidence that exists regarding disinfectant/surfactant/deproteinizing solutions that seek to maintain the integrity of the adhesive interface, by inhibiting endogenous metalloproteinases (MMPs), without prejudice to the adhesive strength, which is evaluated by tests of traction resistance.

A systematic review of scientific articles has been carried out by consulting the MedLine and The Cochran Library databases, with a date restriction of maximum 5 years, in Spanish and English. Grey literature has been included by manual search. The abstracts and complete articles have been revised, taking into account the articles that evaluated the traction resistance in composite restorations. 30 articles have been selected.

This review shows that the use of inhibitors of MMPs promote different effects on dentin adhesive strength values. Although the role of MMPs in the degradation of the hybrid layer is largely known, its role in adhesion to dentin is not completely deciphered. No inhibitory solutions have been found that last over time or permanently inhibit the action of MMPs, to preserve the dentin/resin bond over time.

Keywords: cavitory disinfectants, hybrid layer, metalloproteinases, adhesive strenght

Bibliografía

1. Mooney, J. B., & Barrancos, P. J. (n.d.). *Operatoria dental: Integración clínica*. Buenos Aires, Ar: Editorial Médica Panamericana.
2. Lostaunau, R. C. H. (2014). Reacción de la dentina a los sistemas adhesivos resinosos: aspectos biológicos relacionados y biodegradación de la capa híbrida. *Revista Estomatológica Herediana*, 18(1), 50.
3. Tjäderhane, L., Nascimento, F. D., Breschi, L., Mazzoni, A., Tersariol, I. L. S., Geraldeli, S., ... Pashley, D. H. (2013). Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dental Materials: Official Publication of the Academy of Dental Materials*, 29(1), 116–135
4. Ogawa, K., Yamashita, Y., Ichijo, T., & Fusayama, T. (1983). The ultrastructure and hardness of the transparent of human carious dentin. *Journal of Dental Research*, 62(1), 7-10.
5. Kurosaki, N., Kubota, M., Yarnamoto, Y., & Fusayama, T. (1990). The effect of etching on the dentin of the clinical cavity floor. *Quintessence International*, 21(2).
6. Yoshiyama, M., Tay, F. R., Torii, Y., Nishitani, Y., Itou, K., Ciucchi, B., & Pashley, D. H. (2003). Resin adhesion to carious dentin. *American journal of dentistry*, 16(1), 47-52.
7. Chaussain, C., Boukpepsi, T., Khaddam, M., Tjaderhane, L., George, A., & Menashi, S. (2013). Dentin matrix degradation by host matrix metalloproteinases: inhibition and clinical perspectives toward regeneration. *Frontiers in physiology*
8. Bertassoni, L. E., Orgel, J. P., Antipova, O., & Swain, M. V. (2012). The dentin organic matrix—limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. *Acta biomaterialia*, 8(7), 2419-2433.
9. Perdigão, J., Reis, A., & Loguercio, A. D. (2013). Dentin adhesion and MMPs: a comprehensive review. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 25(4), 219-241.
10. Tjäderhane, L., Nascimento, F. D., Breschi, L., Mazzoni, A., Tersariol, I. L., Geraldeli, S., ... & Pashley, D. H. (2013). Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dental Materials*, 29(1), 116-135.
11. Li, H., Li, T., Li, X., Zhang, Z., Li, P., & Li, Z. (2015). Morphological effects of MMPs inhibitors on the dentin bonding. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(7), 10793.
12. Mazzoni, A., Scaffa, P., Carrilho, M., Tjäderhane, L., Di Lenarda, R., Polimeni, A., ... & Breschi, L. (2013). Effects of etch-and-rinse and self-etch adhesives on

- dentin MMP-2 and MMP-9. *Journal of dental research*, 92(1), 82-86.
13. Tezvergil-Mutluay, A., Seseogullari-Dirihan, R., Feitosa, V. P., Tay, F. R., Watson, T. F., Pashley, D. H., & Sauro, S. (2014). Zoledronate and ion-releasing resins impair dentin collagen degradation. *Journal of dental research*, 93(10), 999-1004.
 14. Sabatini, C., & Pashley, D. H. (2014). Mechanisms regulating the degradation of dentin matrices by endogenous dentin proteases and their role in dental adhesion. A review. *American journal of dentistry*, 27(4), 203.
 15. Sinha, D. J., Jaiswal, N., Vasudeva, A., Garg, P., Tyagi, S. P., & Chandra, P. (2016). Comparative evaluation of the effect of chlorhexidine and *Aloe barbadensis* Miller (*Aloe vera*) on dentin stabilization using shear bond testing. *Journal of conservative dentistry: JCD*, 19(5), 406.
 16. Shafiei, F., Alikhani, A., & Alavi, A. A. (2013). Effect of chlorhexidine on bonding durability of two self-etching adhesives with and without antibacterial agent to dentin. *Dental research journal*, 10(6), 795.
 17. Kamble, S. S., Kandasamy, B., Thillaigovindan, R., Goyal, N. K., Talukdar, P., & Seal, M. (2015). In vitro Comparative Evaluation of Tensile Bond Strength of 6th, 7th and 8th Generation Dentin Bonding Agents. *Journal of international oral health: JIOH*, 7(5), 41.
 18. Oznurhan, F., Ozturk, C., & Ekei, E. S. (2015). Effects of different cavity-disinfectants and potassium titanyl phosphate laser on microtensile bond strength to primary dentin. *Nigerian journal of clinical practice*, 18(3), 400-404.
 19. Longhi, M., Cerroni, L., Condò, S. G., Ariano, V., & Pasquantonio, G. (2014). The effects of host derived metalloproteinases on dentin bond and the role of MMPs inhibitors on dentin matrix degradation. *ORAL & implantology*, 7(3), 71.
 20. Montagner, A. F., Sarkis-Onofre, R., Pereira-Cenci, T., & Cenci, M. S. (2014). MMP inhibitors on dentin stability: a systematic review and meta-analysis. *Journal of dental research*, 93(8), 733-743.
 21. Carvalho, C., Fernandes, F. P., Freitas, V. D. P., FRANÇA, F. M. G., Basting, R. T., Turssi, C. P., & AMARAL, F. L. B. (2016). Effect of green tea extract on bonding durability of an etch-and-rinse adhesive system to caries-affected dentin. *Journal of Applied Oral Science*, 24(3), 211-217.
 22. Dionysopoulos, D. (2016). Effect of digluconate chlorhexidine on bond strength between dental adhesive systems and dentin: A systematic review. *Journal of conservative dentistry: JCD*, 19(1), 11.
 23. Tjäderhane, L., Nascimento, F. D., Breschi, L., Mazzoni, A., Tersariol, I. L., Geraldeli, S., ... & Pashley, D. H. (2013). Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer—a review. *Dental Materials*, 29(10), 999-1011.
 24. Mazzoni, A., Scaffa, P., Carrilho, M., Tjäderhane, L., Di Lenarda, R., Polimeni, A., ... & Breschi, L. (2013). Effects of etch-and-rinse and self-etch adhesives on dentin MMP-2 and MMP-9. *Journal of dental research*, 92(1), 82-86.

25. Mazzoni, A., Tjäderhane, L., Checchi, V., Di Lenarda, R., Salo, T., Tay, F. R., ... & Breschi, L. (2015). Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *Journal of dental research*, 94(2), 241-251.
26. Mazzoni, A., Apolonio, F. M., Saboia, V. P. A., Santi, S., Angeloni, V., Checchi, V., ... & Breschi, L. (2014). Carbodiimide inactivation of MMPs and effect on dentin bonding. *Journal of Dental Research*, 93(3), 263-268.
27. Epasinghe, D. J., Yiu, C. K. Y., Burrow, M. F., Hiraishi, N., & Tay, F. R. (2013). The inhibitory effect of proanthocyanidin on soluble and collagen-bound proteases. *Journal of dentistry*, 41(9), 832-839.
28. Sabatini, C., & Pashley, D. H. (2015). Aging of adhesive interfaces treated with benzalkonium chloride and benzalkonium methacrylate. *European journal of oral sciences*, 123(2), 102-107.