



U. PORTO



FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

**Remineralização Biomimética: o futuro da Medicina Dentária
Conservadora**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nicole Miranda Ramos

Porto, 2021

“Remineralização Biomimética: o futuro da Medicina Dentária Conservadora”

Área Científica: Dentisteria Operatória

Autora: Nicole Miranda Ramos

Aluna do 5º ano do Mestrado Integrado em Medicina Dentária na Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Contacto: up201703210@edu.fmd.up.pt

nicolemramos14@gmail.com

O Orientador:

Prof. Doutor João Ricardo Cardoso Ferreira

Professor Auxiliar Convidado da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Porto, 2021

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Doutor João Ricardo Cardoso Ferreira, pelo apoio incondicional durante esta etapa tão importante da minha vida acadêmica. Desde o primeiro dia em que aceitou ser meu orientador, mostrou-se sempre disponível, com muita paciência e pronto para partilhar conhecimento. Obrigada pelo acompanhamento e motivação.

Aos meus pais, por terem tornado isto possível. Sou eternamente grata por tudo o que me proporcionaram, por acreditarem em mim e me apoiarem em todas as fases da minha vida. São o exemplo de resiliência e humildade.

Ao meu irmão, pela referência que é desde sempre na minha vida. Por me ter mostrado que lutar pelos nossos sonhos e objetivos, independentemente dos obstáculos que aparecerem no caminho, é sempre a melhor escolha.

Aos meus avós, por serem a minha inspiração diária. Foram muitas vezes durante esta etapa, a minha força para não desistir. Um especial obrigado ao meu avô Alfredo, por tudo o que vivemos juntos. Seremos para sempre um do outro.

À minha família, pelos valores, vivências e apoio que partilhamos.

Ao Inácio, por ter sido o meu grande pilar desde o primeiro até ao último dia. Não tenho palavras para lhe agradecer toda a motivação, companheirismo, paciência e amor. Foram 5 anos de crescimento e aprendizagem.

Às minhas amigas Catty, Catarina e Leonor, por serem o melhor que levo desta viagem. Nunca esquecerei tudo o que vivemos, o apoio que fomos umas para as outras e o quanto fomos felizes nestes 5 anos. Sem elas não teria sido possível ultrapassar momentos tão difíceis e desafiantes. Levo-as para a vida.

À Joana, amiga de muitos anos e parceira de todas as horas. Obrigada pela paciência e por nunca ter deixado de estar presente, seja em que momento fosse.

Aos meus amigos, aos de sempre e aos de agora, por serem uma parte tão importante e feliz da minha vida.

RESUMO

Introdução: As limitações intrínsecas aos procedimentos restauradores atuais estão diretamente relacionadas com a degradação da matriz de colagénio e a impossibilidade de preencher totalmente a dentina com a infiltração de monómeros resinosos ⁽¹⁾. Dessa forma, a camada híbrida fica vulnerável à degradação, resultando em danos na integridade interfacial, na redução da resistência adesiva, em falhas nas ligações resina-dentina e, por fim, na diminuição das propriedades biológicas e mecânicas da dentina ⁽²⁾.

Nesse sentido, o desenvolvimento de novas técnicas, meios remineralizantes e até de novos materiais restauradores parece ser a abordagem mais promissora para suprimir a desmineralização, melhorar a durabilidade da ligação resina-dentina, controlar as recidivas de cárie muitas vezes associadas aos procedimentos restauradores e promover a remineralização dos tecidos dentários ^(3, 4).

A remineralização biomimética vem preencher os requisitos acima referidos e baseia-se na reparação das estruturas mais afetadas, devolvendo as características perdidas aos tecidos de um dente natural, restabelecendo, dessa forma, os parâmetros, biológico, biomecânico, funcional e estético ⁽⁵⁾.

Objetivo: O objetivo desta monografia é realizar uma revisão bibliográfica da literatura, analisando o estado da arte no que concerne à Remineralização Biomimética da dentina desmineralizada, as estratégias mais relevantes e em que medida pode ser aplicável pelos médicos dentistas, em ambiente clínico, num futuro próximo.

Materiais e Métodos: Realizou-se uma extensa pesquisa bibliográfica, utilizando diferentes bases de dados: *Pubmed*, *Web of Science* e *Google Scholar*. Como critério de inclusão, o espaço temporal abrangido foi entre 2010 e março de 2021. Para além disso, os filtros utilizados foram: “Free full text”, “Humans”, “English”, “Portuguese” e “Spanish”.

Resultados: Esta revisão bibliográfica inclui um total de 55 artigos. No entanto nas tabelas de resultados apresentadas foram incluídos apenas 30 artigos, sendo que não foram adicionados artigos de revisão bibliográfica, sistemática ou dissertações de mestrado. Os métodos de remineralização biomimética foram divididos em 6 subtemas: fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo, análogos biomiméticos que imitam as funções das Proteínas Não Colagenosas na biomineralização da dentina, gel de agarose, materiais restauradores bioativos, glutaraldeído e vidro bioativo.

Desenvolvimento: A maioria dos métodos biomiméticos utilizados nos artigos triados mostraram-se promissores na remineralização biomimética da dentina, provando que existem formas de colmatar as limitações e insucessos a longo prazo da dentisteria minimamente invasiva. São exemplos disso a adição de análogos biomiméticos e partículas bioativas a materiais restauradores e adesivos rotineiramente utilizados, o fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo associado a agentes estabilizadores, assim como a utilização de agentes *cross-linking* para promover a remineralização.

Conclusões: Apesar da remineralização biomimética da dentina ser um método revolucionário e inovador, são necessários estudos *in vivo*, de forma a investigar o efeito das condições fisiológicas do dente neste processo e se perceber qual a melhor forma de aplicação clínica. Para além disso, é fundamental comparar-se o desempenho das diferentes abordagens entre si e quais seriam as indicações clínicas para a utilização dos diferentes métodos.

Palavras-Chave: *Remineralização Biomimética; Nanopercursos de fosfato de cálcio; Dentina; Colagénio; Análogos Biomiméticos; Materiais Dentários Bioativos.*

ABSTRACT

Introduction: The intrinsic limitations to the current restoration procedures are directly related with the degradation of the collagen matrix and the inability to completely fill the dentin with a resin monomers infiltration ⁽¹⁾. Thus, the hybrid layer is vulnerable to degradation, leading to damages in the interfacial integrity, in reduction of the adhesive resistance failure in resin-dentin connections, and finally, reduction in the biological and mechanic dentin proprieties ⁽²⁾.

Therefore, the development of new techniques, remineralization methods and even new restorative materials seem to be a more promising approach to suppress demineralization, improve the durability of the resin-dentin bond, control how caries relapses are often associated with restorative procedures and to promote remineralization of the dental tissues ^(3, 4).

Biomimetic remineralization fulfills the requirements referred above, based on rehabilitating the most affected structures, rebuilding the characteristics of natural teeth, resetting the parameters, at the biological, biomechanical, functional, and aesthetic level ⁽⁵⁾.

Purpose: The objective of this monograph is to analyze the most relevant analyzes regarding the Biomimetic Remineralization of demineralized dentin, and the state of art that concerns on the biomimetic remineralization and how can it be applied by the dentist in a close future.

Methodology: The bibliographic research was carried out in different databases: Pubmed, *Web of Science* and *Google Scholar*. The inclusion criteria was a timespan between 2010 and March 2021. In addition, the filters used were: "Free full text", "Humans", "English", "Portuguese" and "Spanish".

Results: In this bibliographic revision a total of 55 articles were included, However in the results table only 30 were included, of which none is a bibliographic, systematic review or master's thesis article. The biomimetic remineralization methods were divided into 6 sub-themes: casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate, biomimetic analogs that mimic the functions of Non Collagenous Proteins in the biomineralization of dentin, agarose gel, bioactive restorative materials, glutaraldehyde and bioactive glass.

Discussion: Most of the biomimetic methods used in the screened articles have shown promising in the biomimetic remineralization of dentin, proving that there are ways to overcome the long- term limitations and failures of this minimally invasive dentistry. Examples of these are, the addition of biomimetic analogs and bioactive particles to restorative materials, and to routinely used adhesives, the casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate associated with stabilizing agents, as also the use of cross-linking agents to promote the remineralization.

Conclusions: Although the biomimetic remineralization of dentin is a revolutionary and innovative method, in vivo studies are still necessary in order to investigate the effect of the tooth physiological conditions in this process, as to understand the best form of clinical application. In addition, it is essential to compare the different approaches performance's, and it is essential to understand the clinical indications for the use of the different methods.

Keywords: *Biomimetic Remineralization; Calcium Phosphates nanoprecursors; Dentin; Collagen; Biomimetic analogues; Bioactive dental materials.*

LISTA DE ABREVIATURAS

ACP: Fosfato de cálcio amorfo

AB: Análogos biomiméticos

Asp: Ácido aspártico

BAG: Vidro bioativo

BAG-Zn: Microfiltros de vidro bioativo policarboxilato de zinco

Biodentine: Cimento de silicato tricálcico

Ca-P: Fosfato de cálcio

Ca (OH) 2: Hidróxido de cálcio

CMC: Nanocomplexos de carboximetilquitosana

CPP-ACP: Fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo

DDP: Pó de dentina desmineralizada

DMP-1: Proteína da matriz dentinária 1

Ei: Módulo de elasticidade

EXP: Sistema adesivo experimental

GA: Glutaraldeído

GIC: Cimento de ionómero de vidro

HAP: Hidroxiapatite

Hi: Módulo de dureza

L-Glu: Ácido glutâmico

MMPs: Metaloendoproteinasas

Micro-CT: Microtomografia computadorizada

PAA: Ácido poliacrílico

PAMAM: Dendrímeros de Poliamidoamina

PASP: Ácido poliaspártico

PVPA: Ácido polivinilfosfórico

PILP: Processo de precursor líquido induzido por polímero

SBF: Fluido corporal simulado

SEM: Microscópio eletrônico de varredura

STMP: Trimetafosfato de sódio

TCP: Fosfato tricálcico

TEM: Microscopia eletrônica de transmissão

TPP: Tripolifosfato de sódio

TTCP: Fosfato de tetracálcio

NCPs: Proteínas não colagenosas

NACP: Nanopartículas de fosfato de cálcio amorfo

INDÍCE

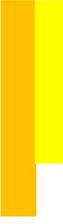
I. INTRODUÇÃO	2
1.1 As limitações das estratégias restauradoras convencionais	2
1.2 A evolução da remineralização biomimética como solução dos problemas acima referidos	3
1.3 Objetivos	5
II. MATERIAIS E MÉTODOS	8
2.1 Estratégias de Pesquisa	8
II. RESULTADOS	11
3.1 Fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP).....	21
3.2 Análogos Biomiméticos que imitam as funções das Proteínas Não Colagenosas (NCPs) na biomineralização da dentina	21
3.3 Gel de Agarose	23
3.4 Glutaraldeído-Agente de ligação cruzada (<i>cross-linking</i>).....	23
3.5 Materiais Restauradores Bioativos	23
3.6 Vidro Bioativo	24
IV. DESENVOLVIMENTO	26
4.1 Estratégias atuais para remineralização biomimética da dentina.....	26
4.1.1 CPP-ACP.....	26
4.1.2 Análogos Biomiméticos que imitam as funções das Proteínas Não Colagenosas (NCPs) na biomineralização da dentina	29
4.1.3 Gel de Agarose	36
4.1.4 Glutaraldeído-Agente de ligação cruzada (<i>cross-linking</i>)	37
4.1.5 Materiais Restauradores Bioativos.....	38
4.1.6 Vidro Bioativo.....	42
V. CONCLUSÕES.....	45
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
VII. ANEXOS.....	53
7.1 Parecer do Orientador para entrega definitiva do trabalho apresentado	58
7.2 Declaração de autoria do trabalho apresentado	59
7.3 Modelo de Declaração de forma de divulgação do trabalho	60

INDÍCE DE TABELAS

Tabela 1 Esquema de Pesquisa	8
Tabela 2 Critérios de Inclusão e Exclusão	9
Tabela 3 Fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo	13
Tabela 4 Análogos biomiméticos que imitam as funções dos NCPs na biomineralização da dentina.....	14
Tabela 5 Gel de Agarose	17
Tabela 6 Glutaraldeído- Agente de Ligação Cruzada.....	17
Tabela 7 Materiais Restauradores Bioativos	18
Tabela 8 Vidro Bioativo.....	19
Tabela 9 Papel de cada um dos análogos biomiméticos.....	21
Tabela 10 Características dos Materiais Restauradores	53
Tabela 11 Tabela complementar de artigos usados na introdução e desenvolvimento	54

INDÍCE DE FIGURAS

Figura 1 Diagrama do trabalho de pesquisa e seleção	12
Figura 2 Esquema de remineralização da dentina induzida por CPP-AC. Adaptado de Cao, Y. et al. "Biomimetic mineralisation of phosphorylated dentine by CPP-ACP.", <i>Journal of dentistry</i> . 2013;41(9):818-25.	27
Figura 3 Remineralização Biomimética do colagénio dentinário do grupo STMP+CPP-ACP. Adaptado de Cao, Y. et al. "Biomimetic mineralisation of phosphorylated dentine by CPP-ACP.", <i>Journal of dentistry</i> , 2013;41(9):818-25.	28
Figura 4 Biomineralização da dentina. Adaptado de Zhong, B. et al. "Contemporary research findings on dentine remineralization. <i>Journal of tissue engineering and regenerative medicine</i> . 2015;9(9):1004-16.	29
Figura 5 Remineralização da dentina humana desmineralizada induzida por STMP. Adaptado de Zhong, B. et al. "Contemporary research findings on dentine remineralization. <i>Journal of tissue engineering and regenerative medicine</i> . 2015;9(9):1004-16.	32
Figura 6 Ilustração esquemática da bioinspiração do processo de mineralização intrafibrilar induzido por G4-COOH como proteína artificial. Adaptado de Li, J. et al. "Bioinspired intrafibrillar mineralization of human dentine by PAMAM dendrimer.", <i>Biomaterials</i> . 2013; 34(28):6738-47.	36
Figura 7 Imagens SEM de cristais minerais depositados na dentina condicionada após cinco ciclos de mineralização biomimética. Adaptado de Ning, T.Y. et al. "Biomimetic mineralization of dentin induced by agarose gel loaded with calcium phosphate. <i>Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials</i> . 2012; 100(1): 138-44.	37
Figura 8 Imagem TEM representativas revelando a microestrutura de amostras de dentina após reticulação GA e 2 dias de remineralização. Adaptado de Chen, C. et al. "Glutaraldehyde-induced remineralization improves the mechanical properties and biostability of dentin collagen. <i>Materials science & engineering C, Materials for biological applications</i> . 2016;67:657-65.	38
Figura 9 Imagem SEM de dentina tratada com Biodentine. Seta: deposição de apatite no túbulo dentinário. Adaptado de Daneshpoor, N. et al. "Comparative evaluation of bioactive cements on biomimetic remineralization of dentin", 2020; 12(3): 291-9.	39



INTRODUÇÃO

I. INTRODUÇÃO

1.1 As limitações das estratégias restauradoras convencionais

Os processos de desmineralização e remineralização coexistem nos dentes durante toda a vida de um indivíduo, o equilíbrio entre os dois processos é fundamental para manter a resistência e dureza dos tecidos ⁽¹⁾ e, em condições patológicas, a desmineralização sobrepõe-se à remineralização ⁽²⁾.

Deste desequilíbrio surge a cárie dentária, uma das doenças mais prevalentes em todo o mundo ⁽⁶⁾. Nos estádios iniciais do processo de cárie, ainda com ausência de lesão cavitada, a mesma é reversível e progride de forma lenta. Se esta não for tratada atempadamente, pode progredir de forma devastadora até à dentina, promovendo a ativação das metaloproteinases (MMPs) da matriz de colagénio e das catepsinas de cisteína, o que levará à degradação das fibras de colagénio e à diminuição das propriedades mecânicas da dentina ^{(2) (7)}. Por um lado, as MMPs encontram-se na dentina humana durante a formação do dente e são ativadas quando presentes em ambientes ácidos, como ocorre em lesões de cárie ou por condicionamento ácido. Por outro lado, as catepsinas de cisteína (proteases derivadas do hospedeiro que participam em diversos processos, como turnover de proteínas normais, remodelação óssea e apoptose ⁽⁸⁾) possuem a capacidade de degradar o colagénio íntegro, aumentando a sua atividade em dentina profunda e cariada, principalmente em pacientes jovens ⁽⁹⁾.

Atualmente, o processo restaurador inicia-se com a aplicação de ácido fosfórico ou monómeros acídicos, promovendo uma desmineralização superficial da dentina e expondo as fibras de colagénio, de forma a aumentar a retenção micromecânica dos compostos de resina que envolvem as fibras e preencher os nanoespaços interfibrilares, formando-se a camada híbrida. Contudo, essas fibras de colagénio, se ficarem expostas, são mais propensas à hidrólise e podem colapsar ⁽¹⁰⁾. Consequentemente, as falhas que podem ocorrer na interface resina-dentina, aquando do processo adesivo, têm como uma das causas a desmineralização excessiva e a formação de *gaps* devido ao incompleto preenchimento por resina adesiva dos nanoespaços da rede de

colagénio ⁽²⁾. Desta forma, a formação de uma camada híbrida qualitativamente superior é inadvertidamente comprometida neste processo ⁽¹¹⁾ ⁽¹²⁾ e o colagénio exposto permanece dentro da interface como resultado da discrepância entre a desmineralização ácida e a infiltração de resina.

As limitações intrínsecas aos procedimentos atuais estão diretamente relacionadas com a degradação da matriz de colagénio e a impossibilidade de preencher totalmente a dentina com a infiltração de monómeros resinosos ⁽¹⁾. Assim, a camada híbrida fica vulnerável à degradação (6 meses após se iniciar a função intraoral ⁽¹¹⁾), resultando em danos na integridade interfacial, na redução da resistência de união, em falhas nas ligações resina dentina e na diminuição das propriedades biológicas e mecânicas da dentina ⁽²⁾. Apesar de a degradação da camada híbrida poder ser evitada pela aplicação de inibidores de MMPs (como a clorexidina) ou de agentes de reticulação (como o glutaraldeído) previamente à aplicação do adesivo, essas estratégias falham em substituir a água presente nos compartimentos por apatite intrafibrilar. Dessa forma, não são capazes de promover a remineralização da dentina e a probabilidade de a restauração falhar é maior ⁽¹³⁾.

1.2 A evolução da remineralização biomimética como solução dos problemas acima referidos

O desenvolvimento de novas técnicas, meios remineralizantes e até de novos materiais restauradores parece ser a abordagem mais promissora para suprimir a desmineralização, melhorar a durabilidade da ligação resina-dentina e a resistência de união, controlar as recidivas de cárie muitas vezes associadas aos procedimentos restauradores e promover a remineralização ^(3, 4). Para além disso, têm o propósito de simular as funções das proteínas da matriz de colagénio, inibir o efeito das MMPs ou fornecer iões de cálcio e fosfato. Estes métodos visam aumentar o conteúdo mineral, manter a orientação inicial dos cristais e proteger a rede de colagénio de enzimas, bactérias ou outros fatores ⁽²⁾.

A remineralização biomimética vem preencher os requisitos acima referidos e baseia-se na reparação das estruturas mais afetadas, reproduzindo as

características de um dente natural, tanto a nível biológico, biomecânico, como funcional e estético ⁽⁵⁾.

A dentina é o tecido mineralizado que forma a maior parte do tecido duro do dente ⁽¹⁴⁾. Histologicamente, é um tecido complexo, constituído por 70% de hidroxiapatite, 20% de matriz orgânica e 10% de água. Embora as fibras de colagénio sejam o principal componente orgânico da dentina, as proteínas não colagenosas (NCPs) e as glicoproteínas (menos de 10% do conteúdo orgânico total) desempenham papéis muito importantes na regulação da mineralização ⁽¹⁵⁾. Contudo, em virtude das suas características, constata-se, que o processo de remineralização da dentina é muito mais complexo e difícil de atingir comparativamente ao do esmalte ⁽¹⁶⁾ (96% de hidroxiapatite mineral, 3% de água e 1% de componente orgânico ⁽¹⁷⁾). Esta diferença pode ser atribuída à menor quantidade de cristais residuais na superfície da dentina, quando existe exposição da matriz orgânica (85 a 90% de colagénio tipo I) ⁽¹⁵⁾.

Em termos clínicos, é reconhecido que a dentina cariada consiste em duas camadas distintas: a dentina infetada por cárie e a dentina afetada por cárie ⁽¹⁷⁾. Em relação à primeira, esta não é fisiologicamente remineralizável e é caracterizada por extensa desmineralização, degeneração das fibras de colagénio e desnaturação dos odontoblastos. Por sua vez, a camada interna é fisiologicamente remineralizável e é caracterizada por desmineralização intermediária, fibras de colagénio sólidas e odontoblastos ativos ^(4, 14, 17, 18).

O tratamento de cárie evoluiu historicamente e envolve uma abordagem conservadora e preventiva, desencorajando a remoção desnecessária da dentina afetada pela cárie ⁽¹⁹⁾, remineralizando-a ^(14, 20), o que está de acordo com o conceito minimamente invasivo ⁽¹⁷⁾.

É crucial referir que existem dois tipos de mineralização do colagénio dentinário: a intrafibrilar e a extrafibrilar. A primeira refere-se ao preenchimento das lacunas das fibras de colagénio por minerais e impulsiona as propriedades mecânicas da dentina, contribuindo para a manutenção da integridade do tecido. Por sua vez, a extrafibrilar ocorre dentro dos espaços intersticiais que separam as fibras de colagénio ⁽¹⁷⁾. Só são considerados verdadeiros processos biomiméticos quando estamos perante ambas.

Para a remineralização da dentina, têm sido utilizadas diferentes abordagens, que podem ser classificadas em clássicas (*top-down* ou de cima para baixo) e não-clássicas (*bottom-up* ou de baixo para cima) ⁽²¹⁾. A primeira é uma abordagem em que a remineralização da dentina é baseada no crescimento epitaxial de cristalitos residuais, que atuam como locais de nucleação para os minerais de fosfato de cálcio ⁽²²⁾ que conseqüentemente precipitam quando a dentina é armazenada numa solução saturada com íons cálcio e fosfato ⁽⁴⁾. Claro está que, com esta estratégia convencional, a remineralização não ocorre em locais onde os cristais se encontram em déficit ou até mesmo ausentes ⁽²⁾. Efetivamente, vários estudos indicam que tal abordagem resultaria numa remineralização incompleta e não funcional da dentina, resultado da falta de controlo da orientação e do tamanho dos cristais de apatite formados durante esse processo ⁽⁴⁾.

A segunda via de remineralização acima referida tenta alcançar uma remineralização biomimética hierárquica da matriz orgânica da dentina, mimetizando as condições biológicas naturais. Assim, a matriz de colagénio da dentina serve como um molde para a deposição mineral na presença de proteínas não colagenosas (NCPs) ou análogos biomiméticos ^(4, 23). Os análogos biomiméticos (mimetizam a função das proteínas da matriz dentinária) de NCPs controlam o processo de remineralização, através da estabilização dos nanoprecusores de fosfato de cálcio amorfo, que, por sua vez, tentam preencher o colagénio desmineralizado através da nucleação da hidroxiapatite no interior do mesmo ^(2, 21).

A abordagem não clássica é considerada vantajosa e mais eficaz em relação à clássica, no entanto, ainda é um desafio clínico e de difícil aplicação ⁽⁴⁾.

Os investigadores advogam que esta nova realidade é o futuro da Medicina Dentária Conservadora e fornecem resultados auspiciosos, tendo em conta que as estratégias convencionais de remineralização do esmalte e dentina não são totalmente eficazes ⁽²⁴⁾.

1.3 Objetivos

Os objetivos desta monografia assentam na realização de uma revisão bibliográfica da literatura, analisando as estratégias e meios mais relevantes no que concerne à Remineralização Biomimética da dentina desmineralizada e em que medida pode ser aplicável pelos médicos dentistas, em ambiente clínico, num futuro próximo.



MATERIAIS E MÉTODOS

II. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Estratégias de Pesquisa

A pesquisa bibliográfica foi efetuada em diferentes bases de dados (*Pubmed*, *Web of Science* e *Google Scholar*) e foram utilizadas combinações das seguintes palavras-chave: *Biomimetic [MeSH] Remineralization*, *Calcium Phosphates [MeSH] nanoprecursors*, *Dentin [MeSH]*, *Collagen [MeSH]*, *Biomimetic [MeSH] analogues*, *Bioactive dental materials [MeSH]*. Foi ainda utilizado o operador booleano “AND” para a junção dos termos.

O esquema de pesquisa está representado na tabela 1.

Tabela 1 Esquema de Pesquisa

Base de dados	Esquema de pesquisa	Filtros
Pubmed	“Remineralization AND Calcium Phosphates AND Dentin” “Remineralization AND Calcium Phosphates” “Biomimetic Remineralization AND Dentin” “Collagen AND Biomimetic Remineralization” “Calcium phosphates nanoprecursors AND Biomimetic Remineralization” “Biomimetic Remineralization AND Biomimetic analogues” “Bioactive dental materials AND Biomimetic Remineralization”	“Free full text”, “Humans”, “English”, “Portuguese”, “Spanish” e “10 years”
Web of science	“Biomimetic Remineralization AND Dentin”	“10 years”
Google Scholar	“Biomimetic Remineralization AND Biomimetic analogues” “Bioactive dental materials AND Biomimetic Remineralization”	“10 years”

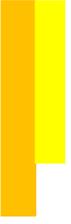
O espaço temporal situa-se entre 2010 e março de 2021 (10 anos e 3 meses). Para além disso, os filtros utilizados foram: “Free full text”, “Humans”, “English”, “Portuguese” e “Spanish”.

Os critérios de inclusão e exclusão para seleção dos artigos para este trabalho estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 Critérios de Inclusão e Exclusão

Critérios de Inclusão	Artigos Revisão Bibliográfica Artigos de Revisão Sistemática Estudos <i>In vitro</i> e <i>In vivo</i> Investigações Casos Clínicos Dissertações de mestrado Dentes Permanentes Remineralização da Dentina
Critérios de Exclusão	Artigos de opinião pessoal Dentes Decíduos Vernizes de Flúor/pastas Remineralização exclusiva do esmalte Estudos em animais

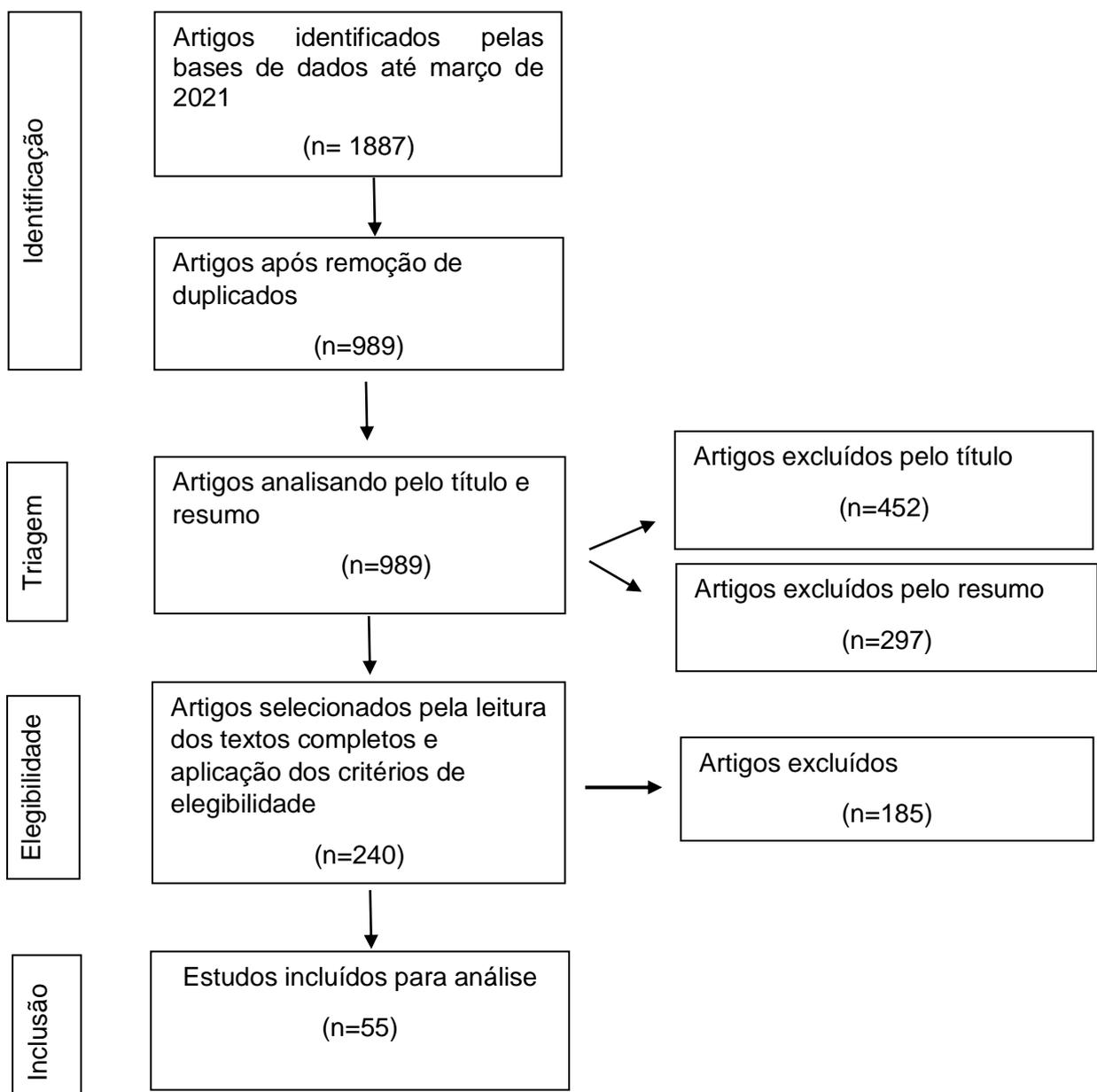
Por fim, o armazenamento dos artigos e a gestão das respetivas referências foi realizada no programa *Endnote X9* versão 3.3 (Clarivate Analytics, Pensilvânia, Estados Unidos da América).



RESULTADOS

II. RESULTADOS

A pesquisa inicial, depois de aplicados todos os filtros, resultou em 1887 artigos potencialmente elegíveis: 204 da *PubMed*, 907 da *Web of Science* e 776 da *Google Scholar*. Após a triagem inicial, 749 foram excluídos pela leitura dos títulos e resumos dos artigos, restando 240 artigos para análise do texto na íntegra. A análise dos textos completos desses artigos levou à inclusão de 55 artigos (2 deles são dissertações, 1 de mestrado e outra de doutoramento) nesta revisão bibliográfica, como representado na Figura 1.



Nas seguintes tabelas (Tabelas 3, 4, 5, 6, 7 e 8) estão apresentados os resultados dos artigos considerados mais relevantes, não estando incluídos artigos de revisão sistemática e bibliográfica nem dissertações de mestrado. Desta forma, e tendo em conta a extensão e o número de artigos apenas 30 dos 55 estão presentes nas tabelas. Através destas, podem ser lidos os autores dos mesmos, o ano de publicação, o método utilizado, os grupos de trabalho e os resultados/comentários. Os restantes artigos encontram-se na Tabela 11 dos anexos, de forma a facilitar a compreensão das conclusões dos mesmos.

Os diferentes métodos de remineralização biomimética da dentina foram distribuídos pelos seguintes subtemas:

- ✓ Fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) (Tabela 3);
- ✓ Análogos biomiméticos que imitam as funções das NCPs na biomineralização da dentina: TPP, PAA, PVPA, STMP, L-Glu, PASP e PAAMAM (Tabela 4);
- ✓ Gel de agarose (Tabela 5);
- ✓ Materiais Restauradores Bioativos (Tabela 6);
- ✓ Glutaraldeído- agente de ligação cruzada (Tabela 7);
- ✓ Vidro bioativo (Tabela 8);

Tabela 3 Fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo

Autor (Ano)	Método	Grupos	Resultados/Comentários
Zhou <i>et al.</i> (2020) ⁽²⁵⁾	➤ CPP-ACP + TPP	A: CPP-ACP B: CPP-ACP + TPP C: Saliva artificial D: Dentina desmineralizada E: Dentina natural	O único grupo que obteve grande grau de remineralização intrafibrilar e os túbulos maioritariamente obstruídos foi o B. Após 21 dias de tratamento as fibras de colagénio apresentavam bandas transversais periódicas ¹ e a deposição mineral foi aumentando com o tempo.
Chen <i>et al.</i> (2015) ⁽¹⁷⁾	➤ CMC / ACP	Controlo: Solução SBF Tratamento: CMC / ACP ou Ca (OH) 2+ SBF	No grupo CMC / ACP foram observadas bandas cruzadas formadas por cristais minerais, os cristais dispostos ao longo do longo eixo da fibra e maior remineralização em comparação com o Ca (OH) 2. A remineralização da dentina com Ca (OH) 2 pode ser atribuída à forma <i>top-down</i> , e com CMC/ACP ao método <i>bottom-up</i> .
Cao <i>et al.</i> (2013) ⁽²⁶⁾	➤ CPP-ACP+STMP	1: CPP-ACP +STMP 2: STMP 3: CPP-ACP	A remineralização completa da dentina, ou seja, intrafibrilar e interfibrilar, ocorre na presença de um análogo biomimético (STMP) e de CPP-ACP (grupo 1). O estudo imitou a aplicação de CPP-ACP numa superfície dentária exposta na boca e os resultados apontam para um novo tratamento de hipersensibilidade dentária.

¹ São partículas aglomeradas de apatite intrafibrilar periodicamente organizada.

Tabela 4 Análogos biomiméticos que imitam as funções dos NCPs na biomineralização da dentina

Autor (Ano)	Método	Grupos	Resultados/Comentários
Liu et al. (2011) (21)	➤ Abordagem descendente e ascendente	1: Abordagem descendente 2: Abordagem ascendente (PAA e PVPA + SBF) 3: Controlo negativo (SBF)	Após 4 meses, o grupo 2 foi capaz de remineralizar as estruturas de colagénio parcialmente desmineralizadas. Na ausência de análogos biomiméticos (grupo 1), não houve evidência de mineralização intrafibrilar e apenas a base da dentina parcialmente desmineralizada foi mineralizada (presença de cristais residuais abundantes).
Mai et al. (2010) (27)	➤ Remineralização biomimética das interfaces resina-dentina	Controlo: SBF Experimentais: SBF + PAA e PVPA	O grupo experimental apresentou remineralização completa após 2 meses, ao contrário do controlo. Passados 3-4 meses a maioria das camadas híbridas tinha sido remineralizada 80 a 90%, exceto na porção basal que estava bem infiltrada com resina. A reexpansão da matriz de colagénio desmineralizado é importante para evitar a nanoinfiltração e para permitir a precipitação mineral dentro dos espaços inter e intrafibrilares.
Liu et al. (2011) (28)	➤ Mineralização hierárquica e não hierárquica	Controlo negativo de colagénio: S/AB + SBF Controlo de análogo de “modelo”: STMP / TPP+ SBF Controlo de análogo de “sequestro”: PAA+ SBF	Para o controlo de análogo de “modelo”, não foi observada remineralização intrafibrilar, mas sim apatite em forma de agulha que precipitou aleatoriamente na superfície das fibras de colagénio após 72 h. Os resultados do controlo de análogo de “sequestro” sugerem que o mecanismo de mineralização envolvido é consideravelmente diferente daquele utilizado por proteínas de matriz natural na biomineralização de tecidos de vertebrados.
Gu et al. (2010) (10)	➤ STMP	Controlo: STMP Experimental: STMP+ PAA	No grupo controlo a remineralização intrafibrilar não ocorreu. Quando PAA foi adicionado ao meio, observaram-se cristais de apatite e a remineralização intrafibrilar foi alcançada na dentina infiltrada com resina. A sorção de STMP em DDP (> com o tempo) pode ser atribuída principalmente à ligação covalente

			entre o STMP e as moléculas de colagénio.
Liu et al. (2011) ⁽²⁰⁾	➤ STMP	1: STMP +adesivo 2: STMP s/ adesivo Controlo negativo 1: S/ STMP+ adesivo <i>One-Step</i> Controlo negativo 2: S/ STMP +água desionizada	Todos os grupos foram remineralizados numa solução com SBF+Cimento de Portland+PAA. Os grupos controlo não exibiram remineralização e a degradação do colagénio deu-se após 4 meses. A remineralização extra e intrafibrilar ocorreu no grupo 2.
Sun et al. (2014) ⁽²⁹⁾	➤ PAA e L- ácido glutâmico	Controlo: Apenas PAA Experimental: PAA+ L- Glu	L-Glu completou a remineralização da parte com depleção de Ca em 2 dias. No grupo controlo foram necessários 7 dias para ocorrer remineralização.
Ryou et al. (2011) ⁽³⁰⁾	➤ Comportamento da dentina na presença ou ausência de remineralização biomimética	Controlo: SBF Experimental: SBF+ PAA+ TPP	No grupo experimental 50% dos espaços da camada híbrida foram fortemente remineralizados, essencialmente na parte que estava menos infiltrada com resina.
Saxena et al. (2019) ⁽³¹⁾	➤ C/ ou s/ TPP+ PAA ou PASP para direcionar o processo PILP	Dentina Nativa Dentina desmineralizada S/ polímero + baixo TPP S/ polímero + alto TPP PASP+ baixo TPP PASP + alto TPP PAA+ baixo TPP PAA+ alto TPP	Os grupos PAA não evidenciaram remineralização. Tanto nos grupos PASP como nos sem polímero, o TPP inibiu a mineralização nas superfícies das amostras, mas promoveu a mineralização no interior. O pré-tratamento com TPP aumentou a remineralização PILP das amostras de dentina desmineralizada. Nem o PILP sozinho nem o PILP com pré-tratamento com TPP foram capazes de remineralizar totalmente esses substratos em todas as profundidades durante o período de estudo.
Wu et al. (2017) ⁽³²⁾	➤ Capacidade de mineralização do colagénio ligado ao PAA	1: Cimento Portland +SBF 2: PAA + cimento Portland+ SBF 3: PAA + cimento Portland + TCP em água desionizada	O PAA pode-se ligar às fibras de colagénio tipo I num ambiente ácido, através de reticulação e ligações de hidrogénio. Nos grupos 2 e 3 houve evidência de remineralização intrafibrilar (grupo 2 em 48h) e bandas cruzadas nas fibras mineralizadas iniciais. Já no grupo 1, não ocorreu remineralização intrafibrilar.
Zhao et al. (2021) ⁽³³⁾	➤ Asp+PAA	A: Dentina natural B: Dentina desmineralizada C: Dentina desmineralizada tratada com solução mineralizante de fosfato de cálcio D: Solução mineralizante com Asp	O Asp encurtou o tempo de remineralização da dentina desmineralizada de 7 para 2 dias. A morfologia e a estrutura hierárquica da dentina remineralizada por esta estratégia foram semelhantes às dos dentes naturais. Os grupos C e D mostraram resistência enzimática semelhante à dentina natural.

Kim et al. (2010) ⁽³⁴⁾	➤ Influência de AB em matrizes de colagénio de dentina completamente e parcialmente desmineralizadas	1: Adesivo autocondicionante + agressivo 2: Adesivo autocondicionante +/- agressivo 3: Adesivo autocondicionante suave	A remineralização da dentina completamente desmineralizada não ocorre quando os análogos biomiméticos estão ausentes de um meio de remineralização. No entanto, é possível observar quando estamos perante a desmineralização parcial, conjeturalmente por crescimento epitaxial. Na presença de AB a remineralização intrafibrilar de matrizes de colagénio completamente desmineralizadas ocorre, através do mecanismo bottom-up.
Liang et al. (2018) ⁽³⁵⁾	➤ G3-PAMAM-COOH+ adesivo com nanopartículas de fosfato de cálcio amorfo (NACP)	1: Dentina controlo 2: Dentina com PAMAM (3 ^o geração) 3: Dentina com adesivo NACP 4: Dentina com adesivo NACP+ PAMAM	Os grupos 1 e 2 não promoveram a remineralização, sendo, por isso, o PAMAM sozinho incapaz disso. O adesivo NACP libertou iões Ca-P e neutralizou o ácido, induzindo uma leve remineralização. Por sua vez, o PAMAM atraiu iões cálcio e fosfato. No grupo 4 observou-se remineralização completa da dentina, aumentando a dureza que se aproximou da dentina sã.
Wang et al. (2015) ⁽³⁶⁾	➤ PAA +PAMAM	Controlo positivo: PAA s/ PAMAM Controlo negativo: S/ PAA e s/ PAMAM Experimental: PAA+ PAMAM	O grupo experimental exibiu fibras de colagénio mineralizadas e os túbulos dentinários estavam quase completamente ocluídos. No controlo negativo não ocorreu a formação de cristais. Já no positivo, observaram-se minerais na superfície dos discos de dentina e dentro dos túbulos dentinários.
Wu et al. (2019) ⁽³⁷⁾	➤ Efeito do G4-PAMAM-COOH nas atividades colagenolíticas de MMPs e interação com colágeno dentinário desmineralizado	Controlo: Água desionizada Experimental: G4-PAMAM-COOH	O G4-PAMAM-COOH protege a matriz de colagénio das MMPs durante a remineralização, não afeta adversamente as propriedades da ligação resina-dentina e tem ligação às fibras de colagénio através de ligação eletrostática.
Liang et al. (2015) ⁽³⁸⁾	➤ Efeito do G3-PAMAM-NH 2 na dentina desmineralizada	Controlo: Água desionizada Experimental: G3-PAMAM-NH 2	O G3- PAMAM-NH 2 possui boa capacidade de ligação à dentina desmineralizada e pode induzir cristais para precipitarem na superfície da dentina e nos túbulos dentinários. No grupo controlo, os túbulos dentinários estavam expostos e apresentavam pouquíssimos novos minerais. Neste estudo não se observou remineralização intrafibrilar.

Li et al. (2013) (39)	➤ Dendrímero PAMAMCOOH como análogo das NCPs	Controlo: Água desionizada+ saliva artificial Experimental: G3-COOH ou G4-COOH	No grupo controlo, os minerais depositaram-se na superfície do colagénio sem se infiltrarem nas fibras e nos túbulos. Em contraste, as amostras tratadas com dendrímero mostraram remineralização intra e interfibrilar.
---------------------------------	--	---	--

Tabela 5 Gel de Agarose

Autor (Ano)	Método	Grupos	Resultados/Comentários
Ning et al. (2012) (40)	➤ Gel de agarose + iões fosfato de cálcio	Dentina condicionada com ácido Dentina condicionada com ácido+SFB Dentina condicionada com ácido+ Gel agarose	O grupo tratado com gel de agarose evidenciou cristais de hidroxiapatite densamente compactados entre si e uniformemente distribuídos na superfície da dentina. Após 10 dias de remineralização, os túbulos dentinários estavam ocluídos. O grupo “dentina condicionada com ácido+SFB” induziu depósitos amorfos e distribuição muito desigual.

Tabela 6 Glutaraldeído- Agente de Ligação Cruzada

Autor (Ano)	Método	Grupos	Resultados/Comentários
Chen et al. (2016) (41)	➤ GA	Controlo: Água desionizada Reticulação de GA: 5% de GA	No grupo de reticulação de GA, após 2 dias de remineralização, a micromorfologia das fibras de colagénio eram ≈ ao grupo não tratado após 7 dias de remineralização. As fibras foram fortemente mineralizadas, o grau de cristalinidade da camada mineral aumentou e a hidroxiapatite fibrilar e extrafibrilar estavam bem alinhadas com o eixo longitudinal do colagénio. Assim, foram devolvidas as propriedades mecânicas à dentina. O processo de remineralização foi obviamente acelerado pelo agente cross-linking GA.

Tabela 7 Materiais Restauradores Bioativos

Autor (Ano)	Método	Grupos	Resultados/Comentários
Schwendicke et al. (2019) ⁽⁴²⁾	➤ Materiais libertadores de iões em lesões de cárie dentinária	1: GIC 2: EXP+ compósito 3: BIOdentine+adesivo+resina 4: MTA+adesivo+resina D1: Cárie superficial induzida quimicamente D2: Cárie profunda induzida quimicamente D3: Cárie profunda induzida por bactérias	Todos os grupos avaliados apresentaram ganhos minerais, independentemente do protocolo da lesão de cárie. No que toca ao aumento da dureza, foi maior nos grupos 3 e 4, mas não ocorreu no grupo 1. O grupo 2 apenas evidenciou aumento da dureza nas lesões D3. Houve uma clara remineralização “top-down” nos grupos 3 e 4 e remineralização “bottom-up” do colagénio intrafibrilar no grupo 2 em apenas algumas zonas. Nenhum dos tratamentos remineralizou completamente as lesões.
Zhao et al. (2017) ⁽⁴³⁾	➤ Efeito GIC com CPP-ACP na resistência adesiva ao cisalhamento (SBS) e na remineralização da dentina afetada por cárie	1: GIC convencional 2: GIC modificado com CPP-ACP 3: GIC modificado por resina	A incorporação de CPP-ACP em GIC não afeta adversamente a adesão à dentina afetada por cárie artificial. Além disso, o GIC modificado com CPP-ACP é superior ao GIC convencional na promoção da remineralização da dentina.
Sauro et al. (2012) ⁽⁴⁴⁾	➤ Efeitos de BAG ou BAG-Zn na interface resina-dentina	Resina-A: Contém BAG Resina-B: Contem BAG-Zn Resina-C: S/ preenchimento	As resinas A e B mostraram a presença consistente de apatite (na resina B após 3 meses e 1 na resina A), micropermeabilidade reduzida dentro da interface resina-dentina e um aumento estatístico das nanopropriedades (Ei e Hi) ao longo da interface adesiva, após armazenamento prolongado em SBFS. Na resina C foi observada uma micropermeabilidade clara dentro da dentina.
Sadoon et al. (2020) ⁽⁴⁵⁾	➤ Uso de análogos biomiméticos (PAA e STMP) na remineralização da dentina usando dois materiais de cimento	Controlo negativo: Não tratados Controlo positivo: Saudável Silicato de cálcio: -Com revestimento -Sem revestimento Hidróxido de cálcio: -Com revestimento -Sem revestimento	Os AB melhoram significativamente o conteúdo de iões na superfície remineralizante. O cimento à base de silicato de cálcio obteve um potencial de remineralização superior comparativamente ao cimento à base de hidroxiapatite, na presença ou ausência de AB. A adição de AB a ambos os materiais foi favorável à remineralização. Ademais, melhorou a microdureza superficial da dentina

			que se aproximou dos valores de dentina saudável.
Bacino et al. (2019) ⁽⁴⁶⁾	➤ Aplicação do método PILP como parte de um tratamento restaurador	1: BioCem (RMGI comercial) 2: BioCem + PASP (20%) 3: BioCem + PASP (40%) 4: 25 mg / ml PASP + BioCem não modificado (rh25BC)	Todos os grupos de tratamento reduziram significativamente o encolhimento após duas semanas de remineralização em comparação com a dentina desmineralizada.
Peters et al. (2010) ⁽⁴⁷⁾	➤ Avaliação <i>in vivo</i> da capacidade de remineralização do cimento de fosfato de cálcio	Controlo: S/ base +restauração adesiva Experimental: Base Ca-P+restauração adesiva	Após 3 meses, a dentina afetada por cárie sob a base de Ca-P mostrou um aumento significativo do conteúdo de cálcio e fósforo até uma profundidade de 30 µm. O conteúdo mineral estava na faixa da dentina saudável.
Daneshpoor et al. (2020) ⁽⁴⁸⁾	➤ Comparação quantitativa da remineralização da dentina desmineralizada através de materiais comerciais bioativos	Theracal Biodentine CPP-ACP	Os cimentos de silicato de cálcio e o CPP-ACP apresentaram bioatividade após 1 semana. Biodentine tem uma bioatividade superior, o que é revelado pela rápida deposição de apatite e bandas de apatite.
Sauro et al. (2015) ⁽⁴⁹⁾	➤ Remineralização da dentina condicionada com ácido pré-tratada com STMP e/ou PASP	Primer de controlo PASP PASP+STMP Resina controlo Resina libertadora de iões bioativos (cimento Portland de 40% +TCP)	Os primers biomiméticos induziram a absorção de fosfato pela dentina desmineralizada, sendo um fator chave para a remineralização das interfaces resina-dentina. As amostras criadas com a resina experimental em combinação com os primers mostraram a maior recuperação do Ei da camada híbrida, redução na microporabilidade e integridade da interface resina-dentina.

Tabela 8 Vidro Bioativo

Autor (Ano)	Método	Grupos	Resultados/Comentários
Wu et al. (2020) ⁽¹⁹⁾	➤ Vidro Bioativo	BAG CPP-ACP F: Fluoreto de sódio e pasta de glicerina (controlo positivo) W: Água desionizada	O BAG possui um efeito remineralizante promissor na cárie dentária artificial, com o aumento da microdureza, formando uma zona de remineralização na superfície da lesão. As fibras de colagénio da dentina não foram expostas na superfície lisa da dentina tratada com BAG, F e CPP-ACP. No que diz

respeito à dureza e à profundidade da remineralização, os grupos do maior para o menor são: BAG, CPP-ACP, F e W.

3.1 Fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP)

Este grupo reuniu 3 artigos, estando os resultados resumidos na Tabela 1. Até ao momento, existem poucos relatos sobre a capacidade do CPP-ACP promover a remineralização intrafibrilar da dentina, sendo desde logo um procedimento difícil de alcançar ⁽²⁵⁾. Em todos os estudos anteriormente apresentados foram adicionados ao CPP-ACP análogos biomiméticos ^(25, 26) ou agentes de estabilização ⁽¹⁷⁾, visando obter a remineralização completa.

3.2 Análogos Biomiméticos que imitam as funções das Proteínas Não Colagenosas (NCPs) na biomineralização da dentina

Relativamente às abordagens que dizem respeito aos análogos biomiméticos, foram selecionados 16 artigos cujos resultados se encontram na Tabela 2. Cada um desses análogos apresenta funções diferentes, promovendo, na maioria das vezes, a remineralização desejada. Na seguinte tabela (Tabela 9) é apresentado o papel de cada um. Na maioria dos estudos, os análogos biomiméticos foram adicionados ao meio de armazenamento. Para além disso, os meios remineralizantes continham comumente Cimento de Portland como fonte de libertação sustentada de iões cálcio e hidroxilo e fluído corporal simulado juntamente com fosfato de cálcio.

Tabela 9 Papel de cada um dos análogos biomiméticos

Análogos	Função
TPP- Tripolifosfato de sódio	<ul style="list-style-type: none">Análogo de “modelo” ⁽²⁸⁾ - mimitiza os domínios altamente fosforilados dentro de muitas proteínas não colagenosas ⁽³¹⁾
PAA- Ácido poliacrílico	<ul style="list-style-type: none">Imita a função de estabilização da DMP1 (simula os locais de ligação de fosfato de cálcio da DMP1 ⁽¹⁵⁾) em precursores de ACP ⁽²⁷⁾Evita a agregação e precipitação de nanoprecursores ^(32, 33), prolongando a vida útil do ACP ^(15, 29)Análogo de “sequestro” ⁽²¹⁾ – contém cadeias laterais de ácido carboxílico que imita os domínios ácidos de muitas proteínas não colagenosas ^{(31) (32)}

	<ul style="list-style-type: none"> • Forte atração química por íons de cálcio ⁽¹⁴⁾
PVPA- Ácido polivinilfosfórico	<ul style="list-style-type: none"> • Simula as cargas negativas de fosfoproteínas, como DMP1, fosfoforina ou sialoproteína óssea ⁽²⁷⁾ • Inibe a atividade de MMPs ⁽²⁴⁾ • Mimetiza a função de ligação ao colagénio da DMP1 ^(15, 21, 24) • Análogo de “modelo” ⁽²⁾ para recrutar nanoprecusores de ACP para a matriz de colagénio ^(15, 21)
PASP- Ácido poliaspártico	<ul style="list-style-type: none"> • Análogo de “sequestro” ⁽³¹⁾ de íons para induzir / estabilizar nanogotículas de uma fase precursora de ACP • Promove a transição do ACP em nanoapatite ⁽³³⁾
STMP- Trimetafosfato de sódio	<ul style="list-style-type: none"> • Fosforila o colagénio tipo I ^(10, 15) • É capaz de se ligar irreversivelmente às fibras de colagénio ⁽²⁸⁾, ligações covalentes ^{(10) (20)} • Atrai nanoprecusores de ACP e inicia a nucleação da apatite ^{(10) (22)} • Análogo da fosforina ⁽²²⁾ • Análogo de “modelo” ⁽²⁸⁾ • Ação antiproteolítica contra MMPs-2 e -9 (são as MMPs mais comuns na dentina cariada e têm uma atividade proteolítica específica contra o colagénio tipo I) ⁽⁵⁰⁾
PAMAM- Dendrímero de poliamidoamina	<ul style="list-style-type: none"> • São modelos de nucleação desejáveis para induzir a remineralização dentária, ou seja, modula a mineralização intrafibrilar altamente ordenada na matriz dentinária orgânica ⁽³⁵⁾ • PAMAM podem atrair íons Ca e P para formar minerais • São considerados “proteínas artificiais” ⁽³⁶⁾ • Ligam-se ao colagénio ⁽²⁴⁾ • Induzem a formação de precusores amorfos ⁽³⁶⁾ • Estabilizam o ACP ⁽³⁶⁾ • Induzem a periodicidade das fibras mineralizadas ⁽¹⁵⁾
L-Glu- Ácido glutâmico	<ul style="list-style-type: none"> • Imita o nucleador da nanoapatite na fase PILP ⁽²⁹⁾ • Substitui o domínio rico em Glu da DMP1 ⁽²⁹⁾ • Promove a cinética de cristalização de ACP metaestável em nanoapatite ⁽²⁹⁾

3.3 Gel de Agarose

No que toca ao sistema de hidrogel de agarose, foi encontrado 1 artigo que reuniu as condições necessárias para ser incluído na Tabela 5. Este método de remineralização pode promover a deposição de hidroxiapatite na superfície da dentina desmineralizada, através de um mecanismo que relaciona a ligação às moléculas de colagénio e a difusão de iões de cálcio e de fosfato.

3.4 Glutaraldeído-Agente de ligação cruzada (*cross-linking*)

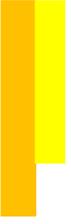
O glutaraldeído (GA) foi também uma abordagem relatada por 1 artigo presente na Tabela 6. Depois das amostras de dentina terem sido desmineralizadas com ácido fosfórico a 35%, foram tratadas com GA a 5% durante 3 minutos ⁽⁴¹⁾. O GA é um agente de reticulação com função dupla, ou seja, possui capacidade de ligação cruzada ao colagénio e ligação ao cálcio.

3.5 Materiais Restauradores Bioativos

De forma a verificar-se uma remineralização eficiente, os componentes essenciais para o processo biomimético (fonte de cálcio e fosfato e análogos biomiméticos) devem ser incorporados num adesivo dentinário ou material restaurador ⁽²⁾. Este grupo reuniu 8 artigos, cujos resultados se encontram presentes na Tabela 7. Foram avaliados materiais libertadores de iões em lesões de cárie dentinária ⁽⁴²⁾, nanocompósitos com NACP ⁽²³⁾, a incorporação de CPP-ACP no cimento de ionómero de vidro modificado com resina ⁽⁴³⁾, adesivos compostos por BAG ou BAG-Zn ⁽⁴⁴⁾, a influência de AB na capacidade remineralizante de materiais à base de silicato de cálcio e hidróxido de cálcio ⁽⁴⁵⁾, a aplicação do método PILP como parte de um tratamento restaurador ⁽⁴⁶⁾, um estudo *in vivo* acerca do cimento de fosfato de cálcio ⁽⁴⁷⁾ e um estudo comparativo de cimentos de silicato de cálcio e CPP-ACP ⁽⁴⁸⁾.

3.6 Vidro Bioativo

Quanto ao vidro Bioativo, apesar de não existirem muitos estudos que evidenciem a eficácia deste método na remineralização da dentina, na Tabela 8 está presente o artigo que relata que este método possui um efeito de remineralização promissor na cárie dentária artificial e pode ser uma escolha terapêutica para o tratamento da mesma ⁽¹⁹⁾.



DESENVOLVIMENTO

IV. DESENVOLVIMENTO

A desmineralização da dentina provocada por lesões cariosas ou não cariosas despoletou a incessante procura por estratégias minimamente invasivas que promovam a sua remineralização. Tem-se trabalhado neste campo visando desenvolver métodos clinicamente exequíveis, de forma a obterem os melhores resultados possíveis e da forma mais conservadora possível. Os resultados positivos inerentes à utilização destas técnicas *in vitro* promoveram não só a remineralização da dentina, mas também ocluíram túbulos dentinários e melhoraram a interface resina-dentina, mostrando a diversidade de tratamentos que poderão proporcionar.

4.1 Estratégias atuais para remineralização biomimética da dentina

4.1.1 CPP-ACP

O complexo CPP-ACP é baseado na agregação do fosfopeptídeo de caseína (CPP) e do fosfato de cálcio amorfo (ACP). Tem como função a libertação, deposição e estabilização de altas concentrações de iões de cálcio e fosfato na superfície do dente, inibindo a desmineralização e promovendo a remineralização^(25, 26). Por um lado, o nanoprecursor ACP é transitório e instável⁽²⁶⁾. É capaz de se converter instantaneamente em fases cristalinas estáveis, como o fosfato de octacálcio (OCP) ou a hidroxiapatite (HAP), e, por essa razão, é difícil usar o ACP para remineralizar os tecidos duros diretamente, a menos que esteja estabilizado de alguma forma⁽¹⁷⁾. Por outro lado, o CPP é capaz de estabilizar o ACP numa solução metaestável (que nunca atinge completamente o equilíbrio), visto que impede que estes nanoprecursores se agreguem ou precipitem, tornando-os pequenos o suficiente para se difundirem nas estruturas da matriz de colagénio e coalescer nas fibras⁽²⁶⁾.

Um diagrama esquemático da mineralização biomimética das fibras de colagénio induzida por CCP-ACP é ilustrado na figura⁽²⁶⁾.

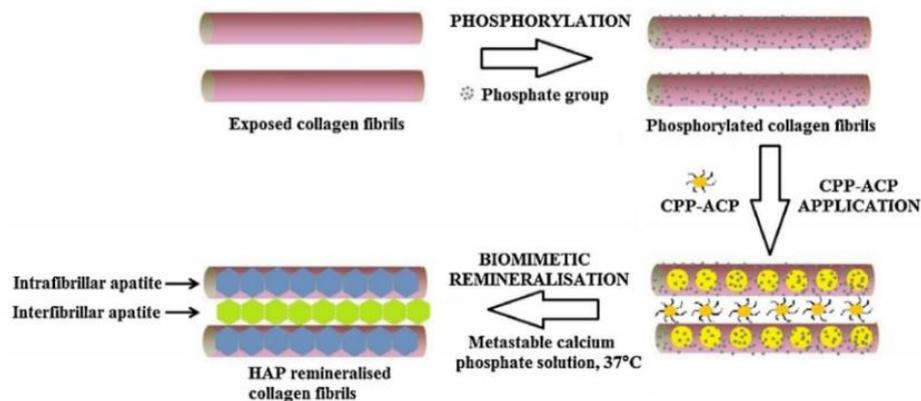


Figura 2 Esquema de remineralização da dentina induzida por CPP-AC. Adaptado de Cao, Y. et al. "Biomimetic mineralisation of phosphorylated dentine by CPP-ACP.", *Journal of dentistry*. 2013;41(9):818-25.

Segundo Zhou *et al.* (2020), para ocorrer remineralização intrafibrilar da dentina foi necessário adicionar ao CPP-ACP um análogo biomimético (neste caso o tripolifosfato de sódio (TPP)). Este foi usado para fosforilar as fibras de colagénio da dentina de forma a fornecer locais de nucleação para a entrada de iões de cálcio e fósforo e induzir a mineralização do colagénio. Os precursores estabilizados por CPP-ACP penetraram nas fibras de colagénio para completar o processo ⁽²⁵⁾.

Num outro estudo, realizado por Cao *et al.* (2013), comparou-se a remineralização da dentina em 3 diferentes grupos. As amostras de dentina foram condicionadas com ácido fosfórico a 37% durante 60 s para desmineralizar a hidroxiapatite e expor o colagénio dentinário. De seguida, e apenas no grupo 1, a superfície da dentina foi fosforilada com o trimetafosfato de sódio (STMP) (análogo biomimético) durante 12h, de forma a incorporar os iões de fosfato nas matrizes de colagénio de dentina desmineralizada. A algumas dessas amostras fosforiladas foi adicionada uma pasta CPP-ACP, o que mostrou indiretamente a remineralização completa da dentina ⁽²⁶⁾.

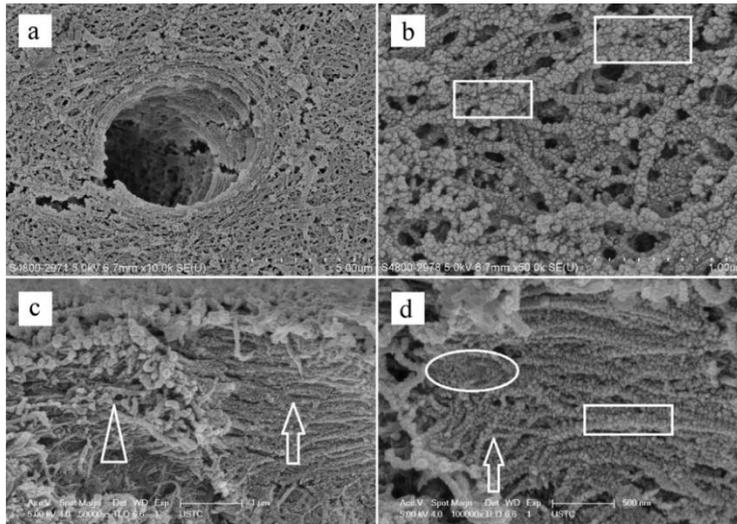


Figura 3 Remineralização Biomimética do colagénio dentinário do grupo STMP+CPP-ACP. Adaptado de Cao, Y. et al. "Biomimetic mineralisation of phosphorylated dentine by CPP-ACP.", *Journal of dentistry*, 2013;41(9):818-25.

É possível observar através da Micrografia SEM (Microscópio Eletrónico de Varrimento), a precipitação de nanopartículas ao longo das fibras de colagénio da dentina peritubular (seta) e intertubular (triângulo) na imagem C. Já na imagem D, visualiza-se a remineralização intrafibrilar (seta) e a remineralização interfibrilar (retângulo).

Por outro lado, Chen *et al.* (2015) pesquisaram a influência de nanocomplexos de carboximetilquitosana e fosfato de cálcio amorfo (CMC-ACP) na remineralização da dentina completamente desmineralizada. Ao contrário do que foi supracitado, neste estudo, usaram a carboximetilquitosana (derivado da quitosana com grupos carboxilo) para estabilizar o ACP, evitando assim que ultrapassassem o tamanho necessário para a nucleação homogénea. Assim, o CMC solúvel em água tem o potencial de facilitar a formação de nanoprecursos ACP em solução devido à sua capacidade quelante. Para além disso, não foram adicionados análogos biomiméticos, o que sugere que o colagénio tipo I pode atuar como modelo para a atração eletrostática de nanopartículas de ACP e orientar a formação de apatite intrafibrilar dentro das zonas de lacunas ^(2, 17).

Contudo, no que toca à função do colagénio na remineralização ainda é um assunto controverso, visto que alguns estudos indicam que o colagénio fibrilar puro não é capaz de iniciar a biomineralização de forma autónoma nem fornecer um mecanismo de nucleação de hidroxiapatite. Por sua vez, fornece a estrutura

e serve como um depósito passivo para armazenar os cristais de apatite de forma ordenada ⁽²⁾ (20, 35).

4.1.2 Análogos Biomiméticos que imitam as funções das Proteínas Não Colagenosas (NCPs) na biomineralização da dentina

De acordo com a literatura científica recolhida, as proteínas não colagenosas (como a osteopontina, sialoproteína óssea, sialoproteína da dentina, proteína 1 da matriz dentinária e sialofosfoproteína dentinária ⁽²⁾) são cruciais para o início da remineralização biomimética. A incorporação de um grupo fosfato de moléculas biomiméticas nas fibras de colagénio da dentina cria uma superfície fosforilada e carregada negativamente. Essa superfície atrai iões de cálcio através da interação eletrostática, estimulando a nucleação e o crescimento da hidroxiapatite ⁽²⁾. Importa referir também que, no processo de biomineralização da dentina, a matriz de colagénio pode atuar como um molde para a deposição mineral na presença de NCPs. Com base no papel das NCPs, várias abordagens biomiméticas foram propostas de forma a induzir a remineralização da dentina ⁽⁵¹⁾. A biomineralização da dentina está demonstrada na Figura 4.

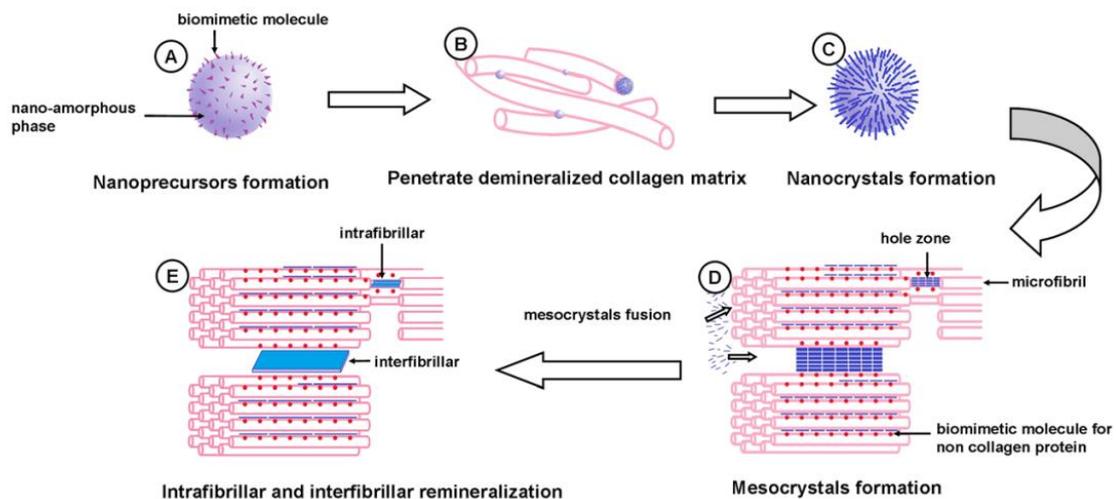


Figura 4 Biomineralização da dentina. Adaptado de Zhong, B. et al. "Contemporary research findings on dentine remineralization. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. 2015;9(9):1004-16.

O estudo de Liu *et al.* (2011) revelou resultados que mostraram existir diferenças significativas entre as abordagens *top-down* e *bottom-up*, tanto na localização da deposição mineral quanto na absorção final do mesmo. Neste estudo, foram utilizados análogos duplos, o ácido poliacrílico (PAA) e o ácido polivinilfosfórico (PVPA). Por um lado, o PAA permitiu a formação e estabilização do ACP derivado do Cimento de Portland e do fluido corporal simulado (SBF). Acredita-se que esses nanoagregados de ACP formem nanoprecursores fluídos que se podem infiltrar nas zonas de lacuna preenchidas com água nas fibras de colagénio dentinário, onde precipitam como nanocristais de apatite. Esta precipitação é guiada pelo segundo análogo que estimula o alinhamento cristalino nas zonas de lacuna ⁽²¹⁾.

De acordo com este conceito, num outro estudo, os mesmos autores (Liu *et al.* (2011)), relataram que apesar de o análogo de “sequestro” (PAA) sozinho ser capaz de transportar grandes quantidades de mineral intrafibrilar, este não é organizado de uma forma “hierárquica” como é frequentemente visto na dentina nativa. Dessa forma, é necessário adicionar um análogo de “modelo” ⁽³¹⁾. Por outro lado, o uso de um polifosfato (STMP) sem um análogo de “sequestro” resultou em precipitações extrafibrilares orientadas aleatoriamente ao longo da superfície fibrilar ⁽²⁸⁾.

Ainda na sequência de pensamentos dos análogos duplos, Mai *et al.* (2010) também utilizaram o PAA e o PVPA de forma a guiarem a distribuição de apatite. Além dessa conclusão, este estudo preconizou que, embora as matrizes de colagénio estruturalmente alteradas sejam passíveis de remineralização na presença de AB, é improvável que sejam remineralizadas na mesma ordem hierárquica e dimensão observada na dentina intacta ⁽²⁷⁾.

Curiosamente, no estudo de Wu *et al.* (2017) as amostras dos grupos 2 (PAA+ Cimento de Portland+ SBF) e 3 (PAA + Cimento de Portland + TCP em água desionizada) demonstraram bandas cruzadas nas fibras mineralizadas iniciais, mesmo sem análogos de fosfoproteína, o que indica que o próprio colagénio tipo I poderia atuar como um modelo para a atração eletrostática de aglomerados de pré-nucleação, estabilizados por PAA, e direcionar a formação de mineralização intrafibrilar ⁽³²⁾.

Adicionalmente, uma questão de extrema relevância foi levantada no estudo de Kim *et al.* (2010). Existem diferenças na remineralização de fibras de colagénio parcial ou totalmente desmineralizadas. Em condições de desmineralização total, a presença de análogos biomiméticos (AB) foi capaz de devolver as propriedades mecânicas da dentina. Já quando está perante a desmineralização parcial, mesmo na ausência de AB, é possível observar remineralização devido ao crescimento epitaxial sobre os cristalitos pré-existentes ⁽³⁴⁾. No entanto, na ausência destes cristalitos, a capacidade da abordagem *top-down* de promover a formação de apatite com dimensões que se aproximam das da dentina natural nunca foi demonstrada a nível ultraestrutural ⁽¹²⁾.

O trimetafosfato de sódio (STMP) foi utilizado juntamente com o ácido poliacrílico (PAA) num estudo de Gu *et al.* (2010). O uso de STMP sozinho como um agente de fosforilação do colagénio tem um potencial limitado para a remineralização da dentina. Foi demonstrado que as moléculas de STMP podem se ligar às fibras de colagénio desmineralizadas após a aplicação direta durante 5 min (após a dentina ter sido condicionada com ácido fosfórico a 37%), guiando assim a deposição de nanoprecusores ACP (libertados pela interação de Cimento de Portland e SBF) estabilizados com PAA ⁽¹⁰⁾.

Em concordância, Liu *et al.* (2011) examinaram o uso do trimetafosfato de sódio (STMP) para guiar a remineralização de dentina afetada por cárie artificial. Os resultados demonstraram que, na ausência de ácido poliacrílico (PAA) e STMP, não houve remineralização, independentemente de as lesões estarem ou não infiltradas com adesivo. Assim, nos grupos controlo houve apenas precipitações de cristalitos de apatite ao longo da superfície da dentina, visto que não apresentavam o tamanho indicado para se infiltrarem nas zonas de lacuna entre as moléculas de colagénio. Concomitantemente, o estudo foi complementado com outra conclusão relevante: a difusão dos componentes de remineralização pode ter sido dificultada pela presença de uma camada adesiva, concluindo que o grupo não adesivo teve menos eficácia. Por conseguinte, é de considerar a incorporação desses componentes previamente à utilização do adesivo. Dessa forma, os elementos biomiméticos estariam mais disponíveis para a matriz de colagénio, evitando a sua degradação precoce pela ação das MMPs ⁽²⁰⁾. Na Figura 5 observa-se a introdução de grupos funcionais de fosfato pelo STMP por

um lado, e a estabilização das gotículas de ACP pelo PAA por outro. Conseqüentemente, o colagénio fosforilado atrai iões de cálcio, formando cristais de fosfato de cálcio. Por fim, os nanoprecursos amorfos são transformados gradualmente em cristais, formando placas ⁽¹⁴⁾.

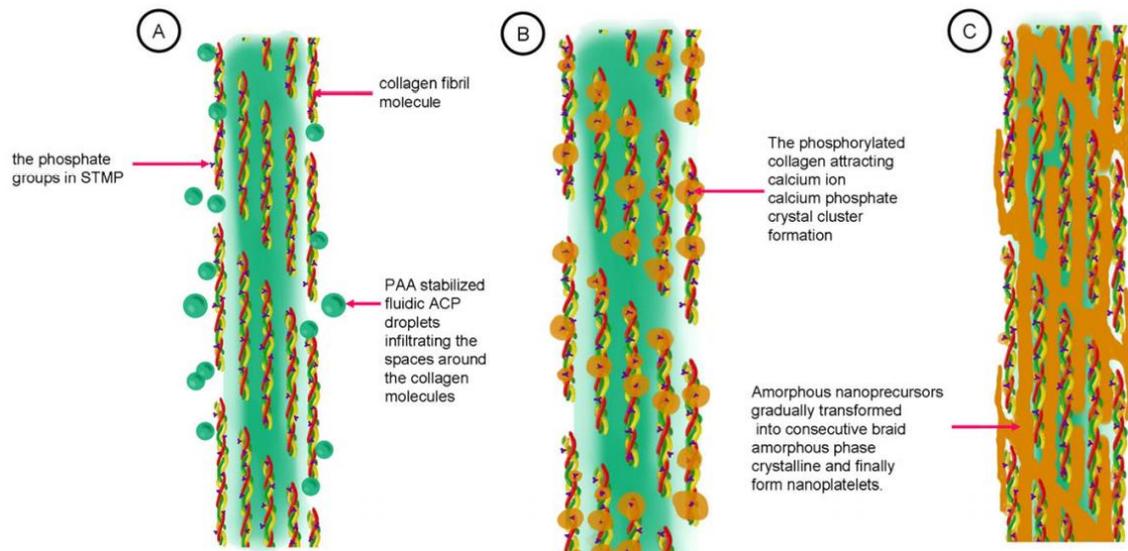


Figura 5 Remineralização da dentina humana desmineralizada induzida por STMP. Adaptado de Zhong, B. et al. "Contemporary research findings on dentine remineralization. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. 2015;9(9):1004-16.

A associação hierárquica entre o colagénio e os minerais é um forte determinante da resistência e dureza dos tecidos mineralizados e, neste estudo, Ryou *et al.* (2011) examinaram o comportamento nanomecânico das camadas híbridas de dentina remineralizadas com a estratégia biomimética dupla (PAA e TPP). A remineralização ocorreu predominantemente dentro das regiões esparsas de resina e cristalinas das camadas híbridas, o que por sua vez também protege as fibras de colagénio desnudadas e restaura o comportamento dinâmico. Contrariamente, na ausência de análogos biomiméticos, a camada híbrida não se mineralizou e as fibras de colagénio nas regiões basais foram degradadas, o que culminou na diminuição dos módulos complexos (medem a capacidade total de elasticidade e amortecimento de um material) dessas regiões ⁽³⁰⁾.

Recentemente, as abordagens baseadas no precursor líquido induzido por polímero (PILP) ganharam impulso tendo em conta que restauram as propriedades mecânicas da dentina, o que é crítico para recuperar a sua função⁽⁴⁶⁾. Neste processo, o colagénio não mineralizado juntamente com polipeptídeos aniónicos (por exemplo: ácido poliaspártico) são colocados em soluções com concentrações hipersaturadas de iões de cálcio e fosfato. O polipeptídeo atua como um agente de direção do processo e sequestra iões para induzir / estabilizar nanogotículas de uma fase precursora de fosfato de cálcio amorfo semelhante a líquido. Essas nanogotículas infiltram-se nas fibras de colagénio (por ação capilar ou através do efeito *Gibbs-Donnan*²)⁽⁵²⁾, solidificam-se em fosfato de cálcio amorfo e, em seguida, cristalizam em nanocristais de hidroxiapatite que são incorporados e alinhados paralelamente ao eixo da fibra de colagénio⁽³¹⁾. Saxena *et al.* (2019) investigaram o uso de TPP juntamente com PAA ou PASP. Neste estudo, os autores concluíram que o uso de PASP com ou sem pré-tratamento com TPP atingiu um elevado grau de remineralização. Contrariamente, com o uso de PAA, pouca ou nenhuma mineralização foi detetada. Uma possível explicação para esse facto deve-se ao baixo peso molecular do PAA, e é possível que algumas dessas pequenas moléculas de polímero tenham entrado nas fibras de colagénio e reduzido o efeito *Gibbs-Donnan*, que possivelmente é o promotor da formação mineral intrafibrilar⁽³¹⁾.

Segundo Sun *et al.* (2014) e Zhao *et al.* (2021) a estratégia PILP demora algum tempo para atingir a remineralização intrafibrilar, o que dificulta a aplicação destes métodos biomiméticos em dentisteria adesiva. Num estudo de Sun *et al.* (2014) foi utilizado o L-Glu (responsável pela formação da nanoapatite na biomineralização natural) como um potencial acelerador para a reparação da dentina induzida por PAA. Como esperado, a sua introdução na solução de remineralização promoveu significativamente a remineralização da dentina⁽²⁹⁾. Similarmente, o ácido aspártico (Asp) é abundante em NCPs, inibe a nucleação e o crescimento da nanoapatite e induz o ACP metaestável. Recentemente, na

² O estabelecimento do equilíbrio Gibbs-Donnan sugere que tanto as forças eletrostáticas de curto alcance conduzidas pela distribuição de carga quanto a osmose de longo alcance conduzida pela pressão osmótica entre os compartimentos de água extra e intrafibrilar são responsáveis pela mineralização de colagénio.

investigação de Zhao *et al.* (2021), foi explorado o efeito do Asp na remineralização da dentina desmineralizada. Os resultados deste estudo revelaram que o mesmo pode acelerar a cinética de cristalização do fosfato de cálcio amorfo estabilizado com PAA em hidroxiapatite ⁽³³⁾.

No que concerne aos dendrímeros de poliamidoamina (PAMAM³) ^(37, 39), estes possuem uma arquitetura altamente ramificada e um grande número de grupos terminais reativos, tornando-os modelos de nucleação (atraem iões Ca²⁺ e P) desejáveis para induzir a remineralização dentária. As macromoléculas PAMAM podem aderir à dentina através de interações eletrostáticas, o que é importante para a remineralização num ambiente oral. A terceira geração deste composto é uma macromolécula esférica com grupos terminais mais funcionais, que fornecem mais locais de nucleação para atrair iões Ca²⁺ e P. No estudo de Liang *et al.* (2018) estes combinaram o PAMAM com um adesivo NACP para obter uma remineralização ainda mais eficaz, numa solução ácida com pH=4 sem quaisquer iões iniciais. Isto porque o fornecimento dos iões necessários pode estar comprometido em casos de pacientes com redução salivar extrema, como, por exemplo, quando submetidos a tratamentos de radioterapia na cabeça e pescoço. Apenas o grupo PAMAM+NACP obteve remineralização completa da dentina, devido ao sinergismo entre os dois componentes. O protocolo clínico para este método de remineralização seria a colocação de uma solução PAMAM após o ataque ácido, e, de seguida, aplicar o adesivo NACP ⁽³⁵⁾.

Os mesmos autores, num outro estudo, investigaram o efeito de G3-PAMAM-NH₂ na dentina desmineralizada e concluíram que possui uma boa capacidade de ligação à dentina desmineralizada e é capaz de induzir a formação de cristais para precipitarem na superfície dentinária e nos túbulos. Após 2 semanas de remineralização todos os túbulos foram preenchidos com cristais em forma de agulha, e a área intertubular foi coberta por minerais recém-formados. 4 semanas depois, a superfície da dentina foi coberta por cristais densos, e era difícil encontrar um túbulo vazio. No entanto, neste estudo, não se observou a remineralização intrafibrilar ⁽³⁸⁾.

³ São macromoléculas poliméricas que possuem propriedades biomiméticas das proteínas, como peso molecular monodisperso, escalas dimensionais semelhantes e arquitetura topológica.

Wang *et al.* (2015) também descreveram a criação de dendrímeros PAMAM de terceira geração funcionalizados e fosforilados que atuam como análogos biomiméticos das NCPs. Nesse estudo, adicionaram o PAA ao PAMAM, exibindo fibras de colagénio mineralizadas e túbulos dentinários quase completamente ocluídos ⁽³⁶⁾.

Por outro lado, Wu *et al.* (2019) investigaram o efeito de PAMAM de quarta geração nas atividades colagenolíticas das MMPs endógenas, a interação entre G4-PAMAM-COOH e o colagénio dentinário desmineralizado e a influência do pré-tratamento na interface resina-dentina. Os resultados evidenciaram que esta geração de PAMAM não só inibiu a rhMMP9 exógena solúvel, mas também prejudicou as atividades proteolíticas das MMPs ligadas ao colagénio. Além disso, o pré-tratamento com G4-PAMAM-COOH não provocou danos na interface resina-dentina, visto que não diminuiu o módulo de elasticidade da dentina desmineralizada, o grau de conversão, a penetração do adesivo nos túbulos dentinários ou a resistência à tração final ⁽³⁷⁾.

Também Li *et al.* (2013) investigaram o uso do dendrímero PAMAM-COOH como análogo das NCPs de forma a promover a remineralização da dentina humana. Os dendrímeros PAMAM terminados em carboxilo possuem grupos ácidos na superfície externa para atrair iões de cálcio, e porções de nitrogénio internas para atuar como locais de complexação destes iões. Essas características tornam os capazes de sequestrar nanoprecursos ACP metaestáveis do meio de mineralização, fixando-os dentro da matriz de colagénio. Neste estudo, os grupos tratados com dendrímero revelaram remineralização intra e interfibrilar, tanto na superfície como nos túbulos dentinários. Em comparação com o grupo G4-COOH, o grupo G3-COOH mostrou um grau de remineralização muito menos eficaz no mesmo período de tempo. Isso ocorreu porque o peso molecular do G3-COOH não está na faixa de retenção de tamanho do colagénio tipo I. Assim, conclui-se que o dendrímero de 4^o geração é um método promissor visto que, tem a capacidade de guiar de forma independente a remineralização da dentina ⁽³⁹⁾. Como se pode observar na Figura 8, o G4-COOH liga-se ao colagénio, captura e estabiliza os nanoprecursos de ACP. Para além disso, atua como modelo para fazer com que esses se organizem de forma ordenada, resultando na periodicidade das fibras. Por fim, este dendrímero guia a montagem dos

mesocristais, para que se transformem em apatite possibilitando a remineralização intrafibrilar.

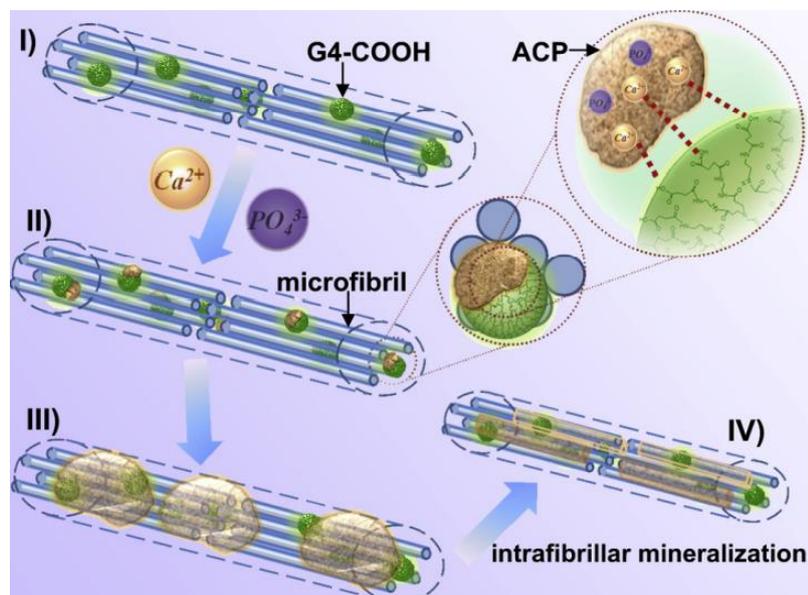


Figura 6 Ilustração esquemática da bioinspiração do processo de mineralização intrafibrilar induzido por G4-COOH como proteína artificial. Adaptado de Li, J. et al. "Bioinspired intrafibrillar mineralization of human dentine by PAMAM dendrimer.", *Biomaterials*. 2013; 34(28):6738-47.

4.1.3 Gel de Agarose

No estudo de Ning *et al.* (2012) foi desenvolvido um novo sistema de mineralização biomimética para induzir a remineralização da dentina: o gel de agarose. As moléculas de agarose polianiónicas ligam-se às moléculas de colagénio carregadas positivamente derivadas da dentina desmineralizada e, em seguida, a solução de agarose gelifica para fornecer um microambiente no qual a mineralização pode ocorrer. Então, os íons de cálcio e de fosfato difundem-se no gel de agarose, e esta atua como um separador espacial e molde aniônico para induzir nucleação e crescimento. Finalmente, os cristais de hidroxiapatite são depositados na superfície da dentina desmineralizada. Neste estudo, quando a dentina condicionada foi exposta ao sistema de mineralização biomimética de gel de agarose carregado com fosfato de cálcio, um grande número de nanocristais foram depositados na superfície da dentina. Com o aumento do tempo de mineralização, os cristais de hidroxiapatite cobriram

completamente a superfície dentinária. Os resultados mostraram que este método pode ser um possível aliado no tratamento de hipersensibilidade dentinária, tendo em conta que possui a capacidade de obstruir os túbulos dentinários ^(1, 40), como representado na Figura 8.

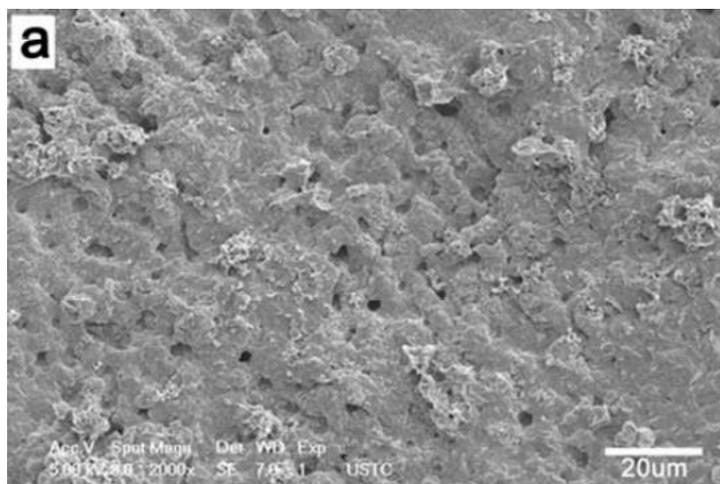


Figura 7 Imagens SEM de cristais minerais depositados na dentina condicionada após cinco ciclos de mineralização biomimética. Adpatado de Ning, T.Y. et al. "Biomimetic mineralization of dentin induced by agarose gel loaded with calcium phosphate. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials*. 2012; 100(1): 138-44.

4.1.4 Glutaraldeído-Agente de ligação cruzada (*cross-linking*)

O glutaraldeído (GA) é um agente de reticulação, composto por um grupo aldeído em cada extremidade da cadeia, que tem sido abundantemente usado na área biomédica, pois promove a bioestabilidade do colagénio, a integridade estrutural e melhora a função do tecido ⁽¹⁾. O objetivo de um estudo de Chen *et al.* (2016) foi investigar o efeito da reticulação (promove a interligação das cadeias poliméricas por ligações covalentes) induzida por GA na remineralização do colagénio desmineralizado, com o propósito de restabelecer as propriedades biomecânicas da dentina. Os resultados do estudo, através de TEM (Microscopia Eletrónica de Transmissão), mostraram bandas de mineralização fibrilar e concluíram, através da avaliação mecânica da dentina, que o módulo de *Young* e a dureza eram semelhantes à dentina natural. Durante a reticulação, o grupo aldeído reage principalmente com os grupos ϵ -amino da lisina e os resíduos da hidroxilisina do colagénio tipo I criando uma rede com ligações cruzadas de fibras

de colagénio e promovendo locais de nucleação para cristais de fosfato e cálcio. No decorrer da remineralização, a água presente nas fibras de colagénio desmineralizadas vai sendo gradualmente substituída por ACP, ação acelerada pelos grupos aldeído que não reagiram e que atraíram iões cálcio. Importa também referir que as redes de colagénio reticuladas podem preservar o colagénio ao inativar as MMPs e cistepsinas de cisteína. A utilização do GA como agente de reticulação e simultaneamente como uma estratégia de remineralização promoveu a resolução de dois problemas comuns: o tempo que a estratégia biomimética demora e as fracas propriedades mecânicas resultantes do uso de apenas GA ⁽⁴¹⁾. Na Figura 8 observa-se a dentina após reticulação de GA e 2 dias de remineralização. O triângulo representa a apatite extrafibrilar, o asterisco a apatite intrafibrilar e as setas as bandas.

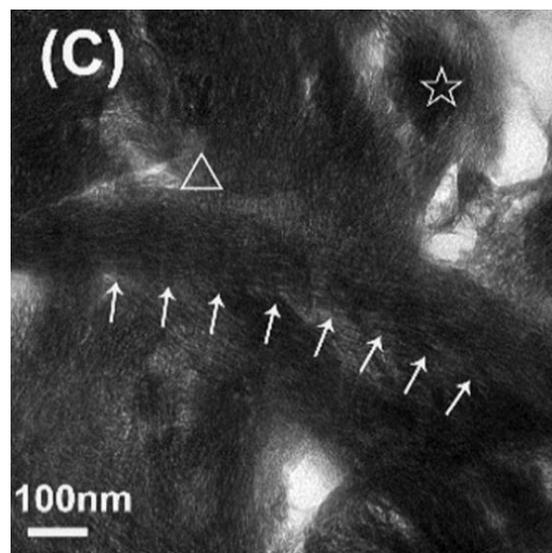


Figura 8 Imagem TEM representativas revelando a microestrutura de amostras de dentina após reticulação GA e 2 dias de remineralização. Adaptado de Chen, C. et al. "Glutaraldehyde-induced remineralization improves the mechanical properties and biostability of dentin collagen. *Materials science & engineering C, Materials for biological applications*. 2016;67:657-65.

4.1.5 Materiais Restauradores Bioativos

O futuro promissor da medicina dentária restauradora assenta no desenvolvimento de materiais com capacidade de remineralização ou regeneração da estrutura dentária perdida com resistência à posterior degradação ⁽²⁴⁾.

A capacidade de um material induzir a formação de apatite na dentina desmineralizada está estritamente relacionada com a sua biointeratividade e bioatividade, ou seja, a capacidade de evocar uma resposta positiva do meio biológico ⁽⁵³⁾.

Na Tabela 10 dos anexos estão presentes as características de cada um dos materiais restauradores que vão ser mencionados ao longo deste subgrupo.

Peters *et al.* (2010) num estudo *in vivo*, investigaram a capacidade de remineralização da dentina afetada por cárie através da utilização do cimento de fosfato de cálcio resinoso. Após 3 meses, nos dentes tratados com o cimento experimental os teores de cálcio e fosfato foram recuperados a níveis semelhantes aos da dentina sã revelando a capacidade da base de Ca-P de promover a remineralização da dentina afetada por cárie ⁽⁴⁷⁾.

Num estudo comparativo de Daneshpoor *et al.* (2020) aferiram a bioatividade e capacidade remineralizante durante 7 dias de 3 materiais bastante conhecidos: *Theracal*, *Biodentine* e CPP-ACP. *Biodentine* apresentou uma bioatividade mais alta após 1 semana, o que é revelado pela rápida deposição de apatite, como representado na Figura 9. Para além disso, tanto os cimentos bioativos como o CPP-ACP promoveram a remineralização, sendo que não existiram diferenças significativas ⁽⁴⁸⁾.

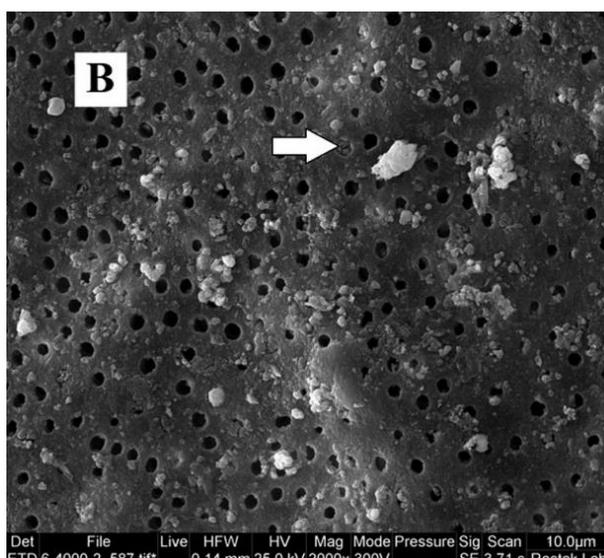


Figura 9 Imagem SEM de dentina tratada com Biodentine. Seta: deposição de apatite no túbulo dentinário. Adaptado de Daneshpoor, N. *et al.* "Comparative evaluation of bioactive cements on biomimetic remineralization of dentin", 2020; 12(3): 291-9.

Schwendicke *et al.* (2019) estudaram os efeitos na remineralização de materiais que libertam iões em lesões de cárie dentinária. Neste estudo, foram testados um cimento de ionómero de vidro (GIC), um material bioativo à base de resina que consiste num primer autocondicionante e um adesivo com biovidro e flúor (EXP), um cimento de silicato tricálcico (*Biodentine*) e o agregado de trióxido mineral (*ProRoot MTA*). Concretamente, através da análise TEM, verificou-se que tanto o *Biodentine* quanto o MTA formaram uma camada de tecido remineralizado entre o cimento e a dentina, mas sem remineralizar as fibras de colagénio. Por outro lado, a dentina cariada artificial pode ser "remineralizada" usando GIC mesmo em profundidades significativas, no entanto, a formação de apatite dentro e à volta das fibras de colagénio não é expectável. No que toca à utilização do EXP, este proporcionou ganhos minerais e de microdureza, principalmente na lesão obtida pelo protocolo de desmineralização mediada por bactérias. Assim, este material proporcionou remineralização intrafibrilar, à luz do conceito "bottom-up" em algumas zonas. Acredita-se que isso foi possível devido à presença de dois análogos biomiméticos (PAA e PASP) no *primer* experimental ⁽⁴²⁾. No que toca ao desenvolvimento e evolução destes sistemas adesivos, é fundamental considerar a profundidade a que são capazes de depositar mineral ⁽¹⁾.

Ainda relacionado com o GIC, Zhao *et al.* (2017) analisaram o efeito do cimento de ionómero de vidro (GIC) modificado com CPP-ACP na força de resistência adesiva ao cisalhamento (SBS) e na remineralização da dentina artificial "afetada por cárie" ⁽⁴³⁾. Tem sido investigada a incorporação de vários agentes nos GICs para promover o potencial biomimético deste material restaurador. O CPP-ACP é um agente remineralizante, considerado um reservatório de fosfato de cálcio. Pode tamponar as atividades dos iões de cálcio e fosfato livres, ajudando assim a manter um estado de hipersaturação em mineral e promovendo a remineralização. No que toca aos resultados do estudo, mostraram que as superfícies de dentina no grupo do GIC modificado com CPP-ACP tiveram uma nanodureza e módulo de elasticidade significativamente maior em relação aos outros grupos. Para além disso, a microtomografia computadorizada (Micro-CT) aferiu que a profundidade da lesão foi significativamente menor neste grupo em comparação com os outros dois materiais (GIC convencional e GIC modificado

com resina). Isso pode ser devido à sua capacidade aprimorada de remineralização.

Sadoon *et al.* (2020) avaliaram a capacidade remineralizante de materiais à base de silicato de cálcio e hidróxido de cálcio na presença e na ausência de análogos de NCPs. A análise de espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDX) mostrou que grupos de cimento à base de silicato de cálcio apresentaram maior teor de íons, justificado pela presença de silicato de cálcio, carbonato de cálcio e cloreto de cálcio. A presença de análogos biomiméticos (AB) em contacto direto com os materiais, assim como sua aplicação dentro da cavidade abaixo do cimento, pode providenciar a libertação de íons dos materiais, que são essenciais ao processo de remineralização. Além disso, melhorou significativamente a microdureza superficial da dentina desmineralizada induzida artificialmente (DMD) que se aproximou dos valores de dentina saudável após 12 semanas de armazenamento ⁽⁴⁵⁾.

A remineralização da dentina através da formação de apatite pelo vidro bioativo tem ganho destaque e já existem pesquisas utilizando o vidro bioativo como preenchimento de materiais restauradores ⁽⁵⁴⁾. Num estudo de Sauro *et al.* (2012) avaliaram os efeitos de duas resinas constituídas por vidro bioativo 45S5 (BAG) e por vidro bioativo com policarboxilato de zinco (BAG-Zn) na interface adesiva entre os materiais restauradores e a dentina, após armazenamento numa solução de fluido corporal simulado (SBFS). O uso de materiais que incluem zinco pode reduzir a degradação do colagénio mediada por MMPs dentro das camadas híbridas mal infiltradas e da dentina cariada, protegendo os locais de clivagem sensíveis do colagénio dentro da dentina desmineralizada. Segundo os resultados obtidos pela espectroscopia confocal de Raman, as resinas A e B mostraram a presença consistente de apatite, apesar da deposição ter sido mais lenta com a resina que contém BAG-Zn. Através da análise de Microscópio de Força Atómica (AFM) para avaliação de nanoidentações foi demonstrado um aumento significativo do módulo de elasticidade (Ei) e dureza (Hi) ao longo da interface adesiva ⁽⁴⁴⁾.

Num outro estudo de Sauro *et al.* (2015), o pré-tratamento da dentina desmineralizada com análogos biomiméticos (STMP e PASP) melhorou a capacidade de remineralização das resinas fotopolimerizáveis libertadoras de

ções na interface resina-dentina. Esta combinação induziu a remineralização intrafibrilar (método *bottom-up*) em vez da deposição de minerais na superfície da dentina, em 90 dias *in vitro*. Acredita-se que a presença de algumas áreas com menor remineralização seja consequência da infiltração de resina, o que prejudicou a deposição mineral dentro do colagénio dentinário ⁽⁴⁹⁾.

Finalmente, num estudo de Bacino *et al.* (2019), avaliaram duas abordagens principais que permitiriam a transferência do método PILP para a prática clínica como parte de um tratamento dentário restaurador. O ácido poliaspártico (PASP) foi misturado em formulações comerciais de cimento ionómero de vidro modificado por resina (RMGI), o *BioCem* (BC), ou o PASP foi adicionado em alta concentração (25mg / ml) a uma solução para reidratar lesões antes de restaurar com um cimento RMGI. Os resultados sugeriram que PASP estava na interface material-dentina e iniciou o processo de mineralização PILP através da interação com o SBF difundido através dos túbulos dentinários. Apesar dessa libertação ser bastante lenta, pode ser clinicamente interessante pois a restauração seria capaz de libertar moléculas de PASP durante algum tempo. Por outro lado, a outra abordagem não interfere com o material. Quando a dentina desmineralizada é seca com ar comprimido, a maior parte da água é removida e a matriz dentinária entra em colapso nesse momento. Quando a lesão é reidratada com solução PILP, as fibras de colagénio flutuam na suspensão aquosa e as nanogotículas de PASP infiltram-se na matriz desmineralizada. Consequentemente, o cimento RMGI é aplicado normalmente como um procedimento restaurador e fotopolimerizado. Quando imersos na solução SBF, os iões de cálcio e fosfato no SBF irão interagir ainda mais com o PASP para promover o processo PILP ⁽⁴⁶⁾.

4.1.6 Vidro Bioativo

O Vidro Bioativo 45S5 (BAG) foi inicialmente introduzido na década de 1970 ⁽¹⁹⁾, um fosfossilicato de cálcio e sódio altamente biocompatível e foi desenvolvido originalmente como um material condutor ósseo, todavia, é quimicamente semelhante ao mineral natural do dente ⁽⁴⁴⁾. Mais tarde, em 2004, foi introduzido

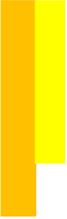
na Medicina Dentária, visando o tratamento da hipersensibilidade dentinária (utilização do vidro bioativo S53P4) ⁽¹⁹⁾.

Este material bioativo dispõe de uma excelente capacidade para induzir a precipitação do fosfato de cálcio e, consecutivamente, a cristalização em hidroxiapatite quando imerso em solução de fluido corporal simulado sem proteínas (SBFS) ou saliva ⁽⁴⁴⁾. Por conseguinte, é um candidato valioso para ser utilizado na remineralização da dentina. No entanto, isso implica que o tratamento com Biovidro aumente não só o conteúdo mineral, mas principalmente promova a orientação intrafibrilar dos cristais na estrutura de colagénio ⁽⁵⁴⁾.

Recentemente, num estudo de Wu *et al.* (2020) com base nos resultados de AFM, foi demonstrado que o mineral se depositou na superfície da lesão de cárie em todos os grupos de tratamento. Não obstante, o BAG teve a maior profundidade de remineralização relativamente aos outros grupos de estudo (Grupo CPP-ACP, Grupo fluoreto de sódio+ glicerina e Grupo água desionizada). A pronunciada capacidade de adesão à estrutura dentária pode ser a principal razão para esse efeito de remineralização aprimorado. Com base nos resultados deste estudo *in vitro*, acredita-se que o BAG inibe a desmineralização e / ou promove a remineralização da cárie dentinária artificial em condições de ciclos dinâmicos de pH ^{4 (19)}.

Numa revisão de literatura, efetuada por Fernando *et al.* (2017), sobre as evidências do BAG para remineralizar a dentina, é referido que num estudo realizado por Wang *et al.* estes encontraram a formação de apatite usando este material bioativo em dentina completamente desmineralizada, o que indica que este processo não foi influenciado por cristalitos residuais ⁽⁵⁴⁾.

⁴ Regimes de remineralização e desmineralização cíclicos para simular a variação dinâmica na saturação mineral e alteração do pH, mimetizando o processo natural de cárie.



CONCLUSÕES

V. CONCLUSÕES

De acordo com a informação científica recolhida e discutida neste trabalho, é possível concluir o seguinte:

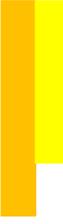
- Uma desvantagem do processo de remineralização é a quantidade de tempo que ele requer (geralmente demora 3-4 meses a estar concluído). O ideal é que a aplicação dos diferentes agentes/técnicas seja simples e rápida.
- O agente remineralizante CPP-ACP é um método promissor para a remineralização da dentina, mas tem de ser usado juntamente com um estabilizador ou análogos biomiméticos de forma a se obter a remineralização completa.
- O sucesso dos análogos biomiméticos foi observado na maioria dos estudos, uma vez que a remineralização intra e interfibrilar das fibras de colagénio foi bem evidente.
- Com base nas funções dos análogos e de forma a simular o papel completo das NCPs, e conseqüentemente, promover a remineralização intrafibrilar estruturada e ordenada é imprescindível combinar um análogo de “sequestro” com um de “modelo”.
- A fosforilação da matriz de colagénio em lesões dentinárias fornece características favoráveis para a atração de nanoprecursores ACP e para a nucleação de hidroxiapatite dentro das fibras de colagénio.
- O processo de mineralização induzido por PAMAM (apenas 1 análogo) de 4^o geração na dentina humana foi caracterizado tanto *in vitro* como *in vivo*, mostrando que é uma estratégia remineralizante vantajosa e eficaz.
- O sistema gel de agarose é capaz de induzir a deposição de hidroxiapatite numa superfície de dentina desmineralizada. No entanto, são necessários mais estudos para suportarem estas afirmações.
- O glutaraldeído mostrou ser uma opção viável e com resultados positivos, resultando em propriedades mecânicas e bioestabilidade aprimoradas, para além das funções habitualmente conhecidas.
- O vidro bioativo tem ganho destaque pelas suas inúmeras características e pelo facto de poder ser adicionado a materiais restauradores, de forma

a tornar menos complexo o processo de remineralização e por ser capaz de impedir o desenvolvimento e propagação de cáries recorrentes nas interfaces das restaurações dentárias.

- O pré-tratamento da dentina com agentes remineralizantes e a introdução desses nos materiais restauradores (como resinas capazes de libertar iões) pode ser aplicado como uma estratégia adequada para restaurar as propriedades mecânicas da dentina e aprimorar a duração das ligações resina-dentina.

As limitações desta revisão foram a impossibilidade de comparar as diferentes abordagens, visto que existe grande variabilidade nas condições dos diferentes estudos e nas metodologias dos mesmos. Para além disso, a maioria dos estudos incluídos nesta monografia são *in vitro* e por isso, são necessários mais estudos *in vivo* em humanos que avaliem os efeitos a longo prazo, para determinar qual o método de aplicação mais eficaz. Seria ainda importante definir e uniformizar protocolos para aplicar em cada caso: seja em situação de cárie, seja quando estão perante lesões não cariosas.

Assim, recomendam-se estudos adicionais sobre este tema para alcançar significativas e congruentes conclusões.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nogueira FS. A influência das técnicas de remineralização biomimética da dentina na durabilidade da união dentina-resina [Tese de Mestrado]. Brasília: Universidade de Brasília; 2017.
2. Niu LN, Zhang W, Pashley DH, Breschi L, Mao J, Chen JH, et al. Biomimetic remineralization of dentin. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2014;30(1):77-96.
3. Liang K, Wang S, Tao S, Xiao S, Zhou H, Wang P, et al. Dental remineralization via poly(amido amine) and restorative materials containing calcium phosphate nanoparticles. *International journal of oral science*. 2019;11(2):15.
4. Watson TF, Atmeh AR, Sajini S, Cook RJ, Festy F. Present and future of glass-ionomers and calcium-silicate cements as bioactive materials in dentistry: biophotonics-based interfacial analyses in health and disease. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2014;30(1):50-61.
5. Zafar MS, Amin F, Fareed MA, Ghabbani H, Riaz S, Khurshid Z, et al. Biomimetic Aspects of Restorative Dentistry Biomaterials. *Biomimetics (Basel, Switzerland)*. 2020;5(3):34.
6. Wang Z, Ouyang Y, Wu Z, Zhang L, Shao C, Fan J, et al. A novel fluorescent adhesive-assisted biomimetic mineralization. *Nanoscale*. 2018;10(40):18980-7.
7. Gomes BS, Rossi AL, Silva EM, Moreira KTT, Santos JC, Ferreira-Pereira A, et al. Effects of a biomimetic analog-based experimental bonding system on caries-affected and sound dentin. *Microscopy research and technique*. 2020;83(12):1610-22.
8. Vivanco RG, Tonani-Torrieri R, Souza ABS, Marquete-Oliveira F, Pires-de-Souza FCP. Effect of natural primer associated to bioactive glass-ceramic on adhesive/dentin interface. *Journal of dentistry*. 2021;106:103585.
9. Ferreira AC, Martins de Paula DM, Nobre NEC, Colares NN, Magalhães GAP, Lemos MVS. Diferentes estratégias para a preservação da camada híbrida: uma revisão de literatura 2016.
10. Gu LS, Kim J, Kim YK, Liu Y, Dickens SH, Pashley DH, et al. A chemical phosphorylation-inspired design for Type I collagen biomimetic remineralization. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2010;26(11):1077-89.
11. Lin HP, Lin J, Li J, Xu JH, Mehl C. In vitro remineralization of hybrid layers using biomimetic analogs. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2016;17(11):864-73.
12. 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.
13. Brackett MG, Li N, Brackett WW, Sword RJ, Qi YP, Niu LN, et al. The critical barrier to progress in dentine bonding with the etch-and-rinse technique. *Journal of dentistry*. 2011;39(3):238-48.
14. Zhong B, Peng C, Wang G, Tian L, Cai Q, Cui F. Contemporary research findings on dentine remineralization. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. 2015;9(9):1004-16.

15. Cao CY, Mei ML, Li QL, Lo EC, Chu CH. Methods for biomimetic remineralization of human dentine: a systematic review. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(3):4615-27.
16. Zhang X, Neoh KG, Lin CC, Kishen A. Remineralization of partially demineralized dentine substrate based on a biomimetic strategy. *Journal of materials science Materials in medicine*. 2012;23(3):733-42.
17. Chen Z, Cao S, Wang H, Li Y, Kishen A, Deng X, et al. Biomimetic remineralization of demineralized dentine using scaffold of CMC/ACP nanocomplexes in an in vitro tooth model of deep caries. *PloS one*. 2015;10(1):0116553.
18. Chen R, Jin R, Li X, Fang X, Yuan D, Chen Z, et al. Biomimetic remineralization of artificial caries dentin lesion using Ca/P-PILP. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2020;36(11):1397-406.
19. Wu Q, Mei ML, Wu X, Shi S, Xu Y, Chu CH, et al. Remineralising effect of 45S5 bioactive glass on artificial caries in dentine. *BMC oral health*. 2020;20(1):49.
20. 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. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2011;27(5):465-77.
21. 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.
22. 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.
23. Weir MD, Ruan J, Zhang N, Chow LC, Zhang K, Chang X, et al. Effect of calcium phosphate nanocomposite on in vitro remineralization of human dentin lesions. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2017;33(9):1033-44.
24. Basheer N, Madhubala MM, Mahalaxmi S. Future Perspectives of Biomimetics in Restorative Dentistry. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 2020;32(25):19-28.
25. Zhou Z, Ge X, Bian M, Xu T, Li N, Lu J, et al. Remineralization of dentin slices using casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate combined with sodium tripolyphosphate. *Biomedical engineering online*. 2020;19(1):18.
26. Cao Y, Mei ML, Xu J, Lo EC, Li Q, Chu CH. Biomimetic mineralisation of phosphorylated dentine by CPP-ACP. *Journal of dentistry*. 2013;41(9):818-25.
27. Mai S, Kim YK, Kim J, Yiu CK, Ling J, Pashley DH, et al. In vitro remineralization of severely compromised bonded dentin. *Journal of dental research*. 2010;89(4):405-10.
28. Liu Y, Kim YK, Dai L, Li N, Khan SO, Pashley DH, et al. Hierarchical and non-hierarchical mineralisation of collagen. *Biomaterials*. 2011;32(5):1291-300.
29. Sun J, Chen C, Pan H, Chen Y, Mao C, Wang W, et al. Biomimetic promotion of dentin remineralization using L-glutamic acid: inspiration from biomineralization proteins. *Journal of materials chemistry B*. 2014;2(28):4544-53.
30. 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. *Journal of dental research*. 2011;90(9):1122-8.
31. Saxena N, Habelitz S, Marshall GW, Gower LB. Remineralization of demineralized dentin using a dual analog system. *Orthodontics & craniofacial research*. 2019;22 Suppl 1(Suppl 1):76-81.

32. Wu S, Gu L, Huang Z, Sun Q, Chen H, Ling J, et al. Intrafibrillar mineralization of polyacrylic acid-bound collagen fibrils using a two-dimensional collagen model and Portland cement-based resins. *European journal of oral sciences*. 2017;125(1):72-80.
33. Zhao L, Sun J, Zhang C, Chen C, Chen Y, Zheng B, et al. Effect of aspartic acid on the crystallization kinetics of ACP and dentin remineralization. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 2021;115:104226.
34. 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 biomaterialia*. 2010;6(7):2740-50.
35. Liang K, Xiao S, Weir MD, Bao C, Liu H, Cheng L, et al. Poly (amido amine) dendrimer and dental adhesive with calcium phosphate nanoparticles remineralized dentin in lactic acid. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials*. 2018;106(6):2414-24.
36. Wang T, Yang S, Wang L, Feng H. Use of multifunctional phosphorylated PAMAM dendrimers for dentin biomimetic remineralization and dentinal tubule occlusion. *RSC Advances*. 2015;5(15):11136-44.
37. Wu Q, Shan T, Zhao M, Mai S, Gu L. The inhibitory effect of carboxyl-terminated polyamidoamine dendrimers on dentine host-derived matrix metalloproteinases in vitro in an etch-and-rinse adhesive system. *Royal Society open science*. 2019;6(10):182104.
38. Liang K, Yuan H, Li J, Yang J, Zhou X, He L, et al. Remineralization of Demineralized Dentin Induced by Amine-Terminated PAMAM Dendrimer. *Macromolecular Journals*. 2014;300(1):107-17.
39. 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.
40. Ning TY, Xu XH, Zhu LF, Zhu XP, Chu CH, Liu LK, et al. Biomimetic mineralization of dentin induced by agarose gel loaded with calcium phosphate. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials*. 2012;100(1):138-44.
41. Chen C, Mao C, Sun J, Chen Y, Wang W, Pan H, et al. Glutaraldehyde-induced remineralization improves the mechanical properties and biostability of dentin collagen. *Materials science & engineering C, Materials for biological applications*. 2016;67:657-65.
42. Schwendicke F, Al-Abdi A, Pascual AM, Ferrando AC, Sauro S. Remineralization effects of conventional and experimental ion-releasing materials in chemically or bacterially-induced dentin caries lesions. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2019;35(5):772-9.
43. Zhao IS, Mei ML, Zhou ZL, Burrow MF, Lo EC, Chu CH. Shear Bond Strength and Remineralisation Effect of a Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate-Modified Glass Ionomer Cement on Artificial "Caries-Affected" Dentine. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(8):1723.
44. 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.
45. Sadoon NY, Fathy SM, Osman MF. Effect of Using Biomimetic Analogues on Dentin Remineralization with Bioactive Cements. *Brazilian dental journal*. 2020;31(1):44-51.
46. Bacino M, Girn V, Nurrohman H, Saeki K, Marshall SJ, Gower L, et al. Integrating the PILP-mineralization process into a restorative dental treatment. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2019;35(1):53-63.

47. Peters MC, Bresciani E, Barata TJ, Fagundes TC, Navarro RL, Navarro MF, et al. In vivo dentin remineralization by calcium-phosphate cement. *Journal of dental research*. 2010;89(3):286-91.
48. Daneshpoor N, Pishavar L. Comparative evaluation of bioactive cements on biomimetic remineralization of dentin. *Journal of clinical and experimental dentistry*. 2020;12(3):291-9.
49. 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. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2015;31(7):759-77.
50. Gonçalves RS, Scaffa PMC, Giacomini MC, Vidal CMP, Honório HM, Wang L. Sodium Trimetaphosphate as a Novel Strategy for Matrix Metalloproteinase Inhibition and Dentin Remineralization. *Caries Research*. 2018;52(3):189-98.
51. Liu Y, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, et al. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *Journal of dental research*. 2011;90(8):953-68.
52. Yu L, Wei M. Biom mineralization of Collagen-Based Materials for Hard Tissue Repair. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(2):944.
53. Gandolfi MG, Taddei P, Siboni F, Modena E, De Stefano ED, Prati C. Biomimetic remineralization of human dentin using promising innovative calcium-silicate hybrid "smart" materials. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2011;27(11):1055-69.
54. Fernando D, Attik N, Pradelle-Plasse N, Jackson P, Grosogeat B, Colon P. Bioactive glass for dentin remineralization: A systematic review. *Materials science & engineering C, Materials for biological applications*. 2017;76:1369-77.
55. Zhang K, Zhang N, Weir MD, Reynolds MA, Bai Y, Xu HHK. Bioactive Dental Composites and Bonding Agents Having Remineralizing and Antibacterial Characteristics. *Dental clinics of North America*. 2017;61(4):669-87.



ANEXOS

VII. ANEXOS

Tabela 10 Características dos Materiais Restauradores

Materiais com hidróxido de cálcio	Capacidade de se dissolverem em fluídos teciduais ⁽⁵³⁾ Libertam íons de cálcio e hidróxido ⁽⁵³⁾ Ação antibacteriana ⁽⁵⁾ e remineralizante ⁽⁵³⁾
Cimentos de ionómero de vidro	Capacidade de libertar flúor e inibir a desmineralização ⁽⁴⁾ Promovem a troca iônica com a dentina, o que inclina a balança a favor da formação de hidroxiapatite ⁽⁴⁾ Boa adesão às estruturas dentárias ⁽⁵³⁾ Baixa solubilidade ⁽⁵³⁾ Bactericidas ⁽⁵⁾ Estimulam a dentina esclerótica ⁽⁵⁾ Efeito anticariogênico é limitado e insuficiente ⁽⁴³⁾ Características comparáveis à dentina, atendendo ao conceito de biomimetismo ⁽⁵⁾
Cimentos de fosfato de cálcio à base de resina	Capacidade de induzir remineralização da dentina desmineralizada/cariada ^(47, 53) Libertam íons de cálcio ou fosfato ^(47, 53)
Cimentos de silicato de cálcio (exemplo: <i>Theracal e Biodentine</i>)	Estimulam os odontoblastos a segregarem dentina terciária ⁽⁵³⁾ Comportamento Bioativo ⁽⁵³⁾ Fornecem grande quantidade de íons cálcio e hidróxido ⁽⁵³⁾ para a dentina desmineralizada, aumentando a dureza Incapazes de alcançar a remineralização intrafibrilar e recuperar o módulo de elasticidade ⁽⁴²⁾ Aumentam pH local ^(22, 55)

Tabela 11 Tabela complementar de artigos usados na introdução e desenvolvimento

Autor (Ano)	Título do Artigo	Conclusões do Autor
Nogueira <i>et al.</i> (2017) ⁽¹⁾	A influência das técnicas de remineralização biomimética da dentina na durabilidade da união dentina-resina	Diversos estudos envolvendo técnicas remineralização da dentina <i>in vitro</i> têm mostrado resultados positivos. O método baseado no processo de precursor líquido induzido por polímero (PILP) têm demonstrado um efeito promissor.
Niu <i>et al.</i> (2014) ⁽²⁾	Biomimetic remineralization of dentin	A estratégia de remineralização biomimética baseada no processo PILP demonstra grande potencial na remineralização da dentina com cárie. Com base neste conceito, a pesquisa de uma estratégia clinicamente viável, como a incorporação de nanoprecusores de sílica mesoporosa contendo nanoprecusores de fosfato de cálcio amorfo estabilizado com ácido polianiónico em adesivos de dentina, tem evoluído.
Liang <i>et al.</i> (2019) ⁽³⁾	Dental remineralization via poly (amido amine) and restorative materials containing calcium phosphate nanoparticles	A combinação de PAMAM com NACP alcançou: excelentes modelos de nucleação, neutralização do ácido e liberação de íons de fosfato e de cálcio. Este método induziu a remineralização completa da dentina e aumentou a dureza. Portanto, esta estratégia é promissora no que toca à inibição da desmineralização. Para além disso, foi capaz de providenciar remineralização de longo prazo, de forma a inibir a cárie e proteger as estruturas dentárias.
Watson <i>et al.</i> (2014) ⁽⁴⁾	Present and future of glass-ionomers and calcium-silicate cements as bioactive materials in dentistry: biophotonics-based interfacial analyses in health and disease	Este artigo focou o seu estudo na interface dentina-restauração e de que forma os cimentos de ionómero de vidro e de silicato de cálcio interagem com o tecido dentário. Estes materiais são capazes de promover a mineralização no substrato dentário devido à sua bioatividade. No entanto, existe uma necessidade cada vez maior de melhorar a bioatividade dos materiais restauradores.
Zafar <i>et al.</i> (2020) ⁽⁵⁾	Biomimetic Aspects of Restorative Dentistry Biomaterials.	A crescente procura por materiais restauradores capazes de mimetizar as funções das estruturas dentárias tem contribuído para cada vez mais pesquisas neste campo. Todavia, e devido à complexidade dos tecidos, o desenvolvimento de materiais biomiméticos ainda está em fase preliminar.
Wang <i>et al.</i> (2018) ⁽⁶⁾	A Novel Fluorescent Adhesive-assisted Biomimetic Mineralization	Neste estudo, foi desenvolvida uma nova estratégia de mineralização biomimética baseada em fosfato de cálcio amorfo estabilizado com ácido poliacrílico (PAA), fluoresceína de sódio e adesivo auto-condicionante suave. Os resultados mostram que o adesivo mineralizante fluorescente possui excelente biocompatibilidade e pode induzir a remineralização intra e extrafibrilar.

Gomes et al. (2020) ⁽⁷⁾	Effects of an experimental bonding system based on biomimetic analogy on healthy dentin affected by caries	Neste estudo, não foi possível confirmar se houve neoformação de cristais de HA. No entanto, os resultados mostraram a presença de minerais em áreas de dentina desmineralizada. Para além disso, o sistema de união experimental com análogos biomiméticos afetou adversamente a atividade de proteases dentinárias.
Vivanco et al. (2021) ⁽⁸⁾	Effect of natural primer associated to bioactive glass-ceramic on adhesive/dentin interface	O tratamento com biossilicato contribuiu para os maiores resultados de resistência de união em dentina afetada por cárie testada após 24h.
Ferreira et al. (2016) ⁽⁹⁾	Diferentes estratégias para a preservação da camada híbrida: uma revisão de literatura	Apesar de existirem inúmeras maneiras de preservar a camada híbrida, muitas delas ainda são desconhecidas pelos médicos dentistas, resultando na menor durabilidade das restaurações.
Lin et al. (2016) ⁽¹¹⁾	In vitro remineralization of hybrid layers using biomimetic analogs	Neste estudo, as camadas híbridas foram remineralizadas quando colocadas num meio de remineralização à base de cimento de Portland que continha dois análogos biomiméticos. Para além disso, a captação de rodamina B foi utilizada para quantificar os efeitos da remineralização.
Gu et al. (2010) ⁽¹²⁾	Changes in stiffness of resin-infiltrated demineralized dentin after remineralization by a bottom-up biomimetic approach	Segundo os autores deste artigo, as matrizes de colagénio com défice de minerais e infiltradas com resina podem ser remineralizadas quando os análogos biomiméticos (PAA e PVPA) estão presentes no meio de remineralização. Neste estudo, tanto a remineralização intra como a interfibrilar puderam ser observadas. A difusão de nanoprecusores de fosfato de cálcio amorfo através da matriz de resina adesiva polimerizada é controlada por difusão. No entanto, este gradiente de densidade mineral é uma questão desafiadora.
Brackett et al. (2011) ⁽¹³⁾	The critical barrier to progress in dentine bonding with the etch-and-rinse technique	Os métodos mais utilizados para aumentar a longevidade das ligações resina-dentina e prevenir a degradação da camada híbrida são a utilização de inibidores de MMPs ou monómeros de resina conjugados com inibidor de MMPs, até que uma solução mais pró-ativa se torne clinicamente disponível. Por outro lado, a associação desta estratégia com a remineralização biomimética é desejável, de forma a prevenir a degradação do colagénio antes da desidratação progressiva da matriz de colagénio e substituição por hidroxiapatite intrafibrilar.
Zhong et al. (2015) ⁽¹⁴⁾	Contemporary research findings on dentine remineralization	A remineralização biomimética tem implicações clínicas importantes, visto que, é capaz de recuperar a morfologia e a função da dentina desmineralizada. No entanto, estudos anteriores sugeriram que ainda existe uma lacuna entre a dentina remineralizada e a dentina natural em termos de organização hierárquica e grau de mineralização. Claramente, são necessários mais estudos de forma a haver uma total compreensão acerca deste tema e identificar

		fontes minerais que são mais passíveis de aplicação clínica.
Cao et al. (2015) ⁽¹⁵⁾	Methods for Biomimetic Remineralization of Human Dentine: A Systematic Review	O sucesso da remineralização biomimética através de vários métodos (o uso de análogos de NCP e materiais bioativos) foi demonstrado por uma série de estudos <i>in vitro</i> . A utilização de análogos biomiméticos promoveu a remineralização intrafibrilar e interfibrilar de fibras de colagénio desmineralizadas. É importante lembrar que as condições <i>in vivo</i> são diferentes, existindo uma série de fatores que contribuem para a complexidade da remineralização neste meio.
Zhang et al. (2012) ⁽¹⁶⁾	Remineralization of partially demineralized dentine substrate based on a biomimetic strategy	A fosforilação do colagénio produz uma superfície carregada negativamente, imitando o papel das proteínas não colagenosas <i>in vivo</i> . Neste estudo, a fosforilação do colagénio e o pré-tratamento com Ca (OH) 2 induziu uma remineralização significativa da superfície da dentina parcialmente desmineralizada, comparativamente com o uso de flúor. Assim, esta estratégia tem potencial para remineralizar lesões dentinárias superficiais.
Chen et al. (2020) ⁽¹⁸⁾	Biomimetic remineralization of artificial caries dentin lesion using Ca/P-PILP	O Ca / P-PILP pode induzir a remineralização biomimética intra e extrafibrilar do colagénio dentinário desmineralizado, e quanto > [Ca / P-PILP] e durante mais tempo, > a capacidade de remineralização.
Braga et al. (2020) ⁽²²⁾	The use of bioactive particles and biomimetic analogues for increasing the longevity of resin-dentin interfaces: A literature review	Vários estudos <i>in vitro</i> demonstraram a capacidade de precipitação mineral e redução da degradação do colagénio com o uso de primers experimentais contendo análogos biomiméticos e adesivos contendo cargas libertadoras de iões (BAG, CaSi, ZnO e Ca-P). No entanto, são necessários mais estudos para definir protocolos que possam ser usados clinicamente e verificar a sua eficácia em longo prazo.
Weir et al. (2017) ⁽²³⁾	Effect of calcium phosphate nanocomposite on in vitro remineralization of human dentin lesions	Este artigo é um exemplo de um método top-down da remineralização da dentina e, tal como mencionado anteriormente, as propriedades mecânicas não são repostas através desta abordagem. Os nanocompósitos experimentais baseados em NACP alcançaram a remineralização substancial da lesão dentinária e a extensão da remineralização aumentou à medida que o tempo passou. Esta remineralização está intimamente relacionada com a capacidade de libertação de altos níveis de iões Ca e P e com as propriedades de neutralização do ácido.
Basheer et al. (2020) ⁽²⁴⁾	Future Perspectives of Biomimetics in Restorative Dentistry	No futuro, é possível que os médicos dentistas utilizem materiais que estimulem a regeneração dos tecidos dentários. Todavia, as evidências das abordagens biomiméticas para a remineralização do esmalte e da dentina ainda estão em estágio laboratorial.
Gonçalves et al. (2018) ⁽⁵⁰⁾	Sodium Trimetaphosphate as a Novel Strategy for Matrix Metalloproteinase Inhibition and Dentin Remineralization	Segundo os resultados deste estudo, pode-se concluir que o STMP apresenta um efeito antiproteolítico contra as atividades das MMPs-2

		e -9, sendo que não é observado para concentrações inferiores a 1,5%. Em contrapartida, 1,5% de STMP é capaz de atuar como um agente biomimético para promover a remineralização da dentina previamente submetida a condições ácidas.
Liu et al. (2011) ⁽⁵¹⁾	Limitations in Bonding to Dentin and Experimental Strategies to Prevent Bond Degradation	Os principais mecanismos envolvidos na degradação das ligações resina-dentina ao longo do tempo são: <ul style="list-style-type: none"> • a hidrólise lenta dos componentes da resina causada pela sorção de água, ou seja, promovida pelo aumento da hidrofília das formulações adesivas contemporâneas; • a degradação de fibras de colagénio ricas em água e esparsas em resina dentro das camadas híbridas pela ativação de MMPs e possivelmente catepsinas de cisteína durante os procedimentos restauradores. Os objetivos para melhorar a durabilidade das ligações são: <ul style="list-style-type: none"> • a substituição completa de água livre dentro dos compartimentos do colagénio • a inativação ou silenciamento de enzimas colagenolíticas.
Yu et al. (2021) ⁽⁵²⁾	Biom mineralization of Collagen-Based Materials for Hard Tissue Repair	Os modelos <i>in vitro</i> que mimetizam ao máximo as condições que ocorrem <i>in vivo</i> , podem fornecer uma percepção mais realista acerca da biom mineralização. Portanto, os biomateriais que mimetizam da melhor forma os tecidos naturais podem ser obtidos através de técnicas recentemente desenvolvidas, como a impressão a 3D em combinação com estratégias biomiméticas.
Gandolfi et al. (2011) ⁽⁵³⁾	Biomimetic remineralization of human dentin using promising innovative calcium-silicate hybrid "smart" materials.	Os materiais restauradores preenchidos com pós reativos de silicato de cálcio possuem a capacidade de libertar iões. Neste estudo, foi desenvolvida uma nova geração de materiais "inteligentes" capazes de induzir a formação de apatite na dentina desmineralizada, sendo compósitos promissores para serem testados em ensaios clínicos.
Fernando et al. (2017) ⁽⁵⁴⁾	Bioactive glass for dentin remineralization: A systematic review.	O tratamento com vidro bioativo contribui para o aumento da formação de apatite na dentina. No entanto, segundo este estudo não há evidências fortes para provar que o vidro bioativo pode remineralizar a dentina.
Zhang et al. (2017) ⁽⁵⁵⁾	Bioactive dental composites and bonding agents having remineralizing and antibacterial characteristics	O desenvolvimento de novas gerações de materiais dentários bioativos e agentes de união com funções terapêuticas tem sido alvo de vários estudos e investigações. A incorporação de nanopartículas de fosfato de cálcio em compósitos e adesivos para remineralizar lesões existentes e inibir a ocorrência de cáries secundárias tem sido explorada.

7.1 Parecer do Orientador para entrega definitiva do trabalho apresentado

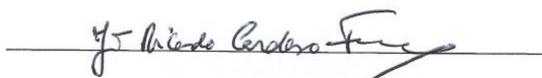


PARECER

(Entrega do trabalho final de Monografia)

Informo que o Trabalho de Monografia desenvolvido pela estudante Nicole Miranda Ramos, com o título “Remineralização Biomimética: o futuro da Medicina Dentária Conservadora” está de acordo com as regras estipuladas na FMDUP, foi por mim conferido e encontra se em condições de ser apresentado em provas públicas.

Porto, 18 de Maio de 2021


(O orientador)

7.2 Declaração de autoria do trabalho apresentado



DECLARAÇÃO (Monografia/Relatório de Estágio)

Declaro que o presente trabalho, no âmbito da Monografia/Relatório de Estágio, integrado no MIMD, da FMDUP, é da minha autoria e todas as fontes foram devidamente referenciadas.

18/05/2021

Nicole Miranda Ramos
(A Estudante)

7.3 Modelo de Declaração de forma de divulgação do trabalho



Declaração

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

Monografia/Relatório de Estágio

Identificação do autor

Nome completo Nicole Miranda Ramos
N.º de identificação civil 251692476 N.º de estudante 201703210
Email institucional UP201703210@edu.fmd.up.pt
Email alternativo nicolemiramos14@gmail.com T11/T1m 913703371
Faculdade/Instituto Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Identificação da publicação

Dissertação de Mestrado Integrado (Monografia) Relatório de Estágio

Título completo

Remineralização Biomimética: o futuro da Medicina Dentária Conservadora

Orientador José Ricardo Cardoso Freixo

Coorientadora _____

Palavras-chave REMINERALIZAÇÃO ANÁLISES MATERIAIS DENTÁRIAS
Biomimética DENTINA; colagénio; Biomiméticos; Bioctivos ;
Nonoperacionais de fosfato de cálcio.

Autorizo a disponibilização imediata do texto integral no Repositório da U.Porto: (x)

Não Autorizo a disponibilização imediata do texto integral no Repositório da U.Porto: _____ (x)

Autorizo a disponibilização do texto integral no Repositório da U.Porto, com período de embargo, no prazo de:

6 Meses: _____; 12 Meses: _____; 18 Meses: _____; 24 Meses: _____; 36 Meses: _____; 120 Meses: _____

Justificação para a não autorização imediata _____

Data 18/05/2021

Assinatura Nicole Miranda Ramos