



PROGRAMA DE DOCTORADO EN ODONTOLÒGIA
CÓDIGO 3143 (RD 99/2011)

TESIS DOCTORAL

Efecto de la aplicación de antioxidantes en las técnicas adhesivas sobre dientes no vitales blanqueados

Doctoranda:

Da. Regina Gascón Pellicer

Dirección:

Prof. Dr. D. Leopoldo Forner Navarro

Profa. Dra. Da. María del Carmen Llena Puy

Valencia, enero de 2024

Efecto de la aplicación de antioxidantes en las técnicas adhesivas sobre dientes no vitales blanqueados

Agradecimientos

Al Dr. Forner y la Dra. Llena por su inconmensurable ayuda. Gracias por guiarme por el camino apropiado, asesorarme en todo momento y dedicarme tanto tiempo. Muchas gracias.

A Sonia, por su ayuda en el microscopio y su rapidez y eficacia en su trabajo.

A mi familia, por todo el tiempo robado para realizar esta tesis.

A mi padre, por enseñarme el camino por la profesión de una manera tan noble.

A mi madre, por ser mi ejemplo de superación y constancia y enseñarme que una mujer es capaz de todo y de manera brillante. Espero algún día ser el mismo ejemplo para mis hijas.

A Migue, sin él, esto no tendría forma; en el sentido literal (gracias por ayudarme con la maquetación) y en el figurado (gracias por animarme, por no dejarme tirar la toalla y por formar parte de mi equipo y mi vida).

Para mis hijos.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	16
1.1	Antecedentes sobre la terapia de blanqueamiento dental	17
1.1.1	Evolución de la terapéutica de las discoloraciones dentales	17
1.1.2	Tipos de agentes blanqueantes	21
1.1.3	Técnicas de Blanqueamiento	23
1.1.4	Mecanismo de acción de los agentes blanqueantes	25
1.1.5	Efectos del blanqueamiento sobre el diente	27
1.1.6	Efectos de los productos blanqueadores sobre la unión de los tejidos mineralizados del diente con los materiales restauradores	35
1.2	Efectos del hipoclorito de sodio sobre la sobre la unión de los tejidos mineralizados del diente a los materiales restauradores	45
1.2.1	Estudios en los que se concluye que el hipoclorito de sodio en dentina deteriora la adhesión	48
1.2.2	Estudios en los que se concluye que el hipoclorito de sodio en dentina mejora la adhesión	54
1.3	Cómo mejorar la unión de los tejidos mineralizados del diente tras el blanqueamiento y la exposición al hipoclorito; uso de Agentes Antioxidantes.....	56
1.3.1	Estudios sobre el ácido ascórbico	59
1.3.2	Estudios comparativos entre el ácido ascórbico y otros antioxidantes	63
1.3.3	Agentes antioxidantes y procesos adhesivos sobre la dentina.....	67
2	OBJETIVOS	70
2.1	Objetivo general	70
2.2	Objetivos específicos	70
3	METODOLOGÍA	72
3.1	Aspectos éticos	73
3.2	Diseño experimental.....	73

3.2.1	Obtención de la muestra	73
3.2.2	Tamaño muestral.....	74
3.2.3	Preparación endodóntica de los especímenes:	75
3.2.4	Técnica de blanqueamiento	79
3.2.5	Distribución de grupos de estudio:.....	81
3.2.6	Protocolo de adhesión.....	85
3.2.7	Sección de los dientes	89
3.2.8	Método de observación.....	90
3.2.9	Análisis de las imágenes	92
3.2.10	Análisis estadístico.....	101
4	RESULTADOS	104
4.1	Test Shapiro – Wilk (normalidad de las variables).....	104
4.2	Tendencias centrales y dispersión de datos de las variables.....	106
4.2.1	Porcentaje de profundidad de penetración del adhesivo	106
4.2.2	Porcentaje de área de dentina con penetración de adhesivo	108
4.2.3	Porcentaje de perímetro con penetración de adhesivo	111
4.3	Valor del estadístico “F” de las variables	113
4.4	Valores estadísticos de Levene	114
4.5	Comparaciones entre grupos.....	115
4.6	Resultados gráficos obtenidos a través del microscopio confocal láser.....	118
4.6.1	Grupo 1: control positivo.....	119
4.6.2	Grupo2: control negativo	120
4.6.3	Grupo 3: Adhesión una semana tras el blanqueamiento	121
4.6.4	Grupo 4: Aplicación de AA durante 5 min	122
4.6.5	Grupo 5: Aplicación de AA durante 10 minutos	123
4.6.6	Grupo 6: Aplicación de resveratrol durante 5 min	124
4.6.7	Grupo 7: Aplicación de AA durante 10 minutos	125
5	DISCUSIÓN.....	128

5.1	Discusión de la metodología	128
5.1.1	Sobre la obtención de la muestra.....	128
5.1.2	Sobre el tamaño muestral	129
5.1.3	Sobre la preparación endodóntica	130
5.1.4	Sobre la técnica de blanqueamiento	132
5.1.5	Sobre el protocolo de adhesión.....	133
5.1.6	Sobre el tipo de antioxidante	135
5.1.7	Sobre el método de observación.....	136
5.2	Discusión de los resultados.....	139
5.2.1	Sobre el efecto sinérgico del hipoclorito y el agente blanqueante	139
5.2.2	Sobre el uso de antioxidantes	140
5.2.3	Sobre el tiempo de aplicación de los antioxidantes	141
5.2.4	Sobre el modo de presentación de los antioxidantes.....	142
5.2.5	Sobre los métodos de análisis de las imágenes	142
6	CONCLUSIONES	146
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	150
8	APÉNDICE DOCUMENTAL	188

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

Sigla/Abreviatura	Significado
AA	Ácido ascórbico
CaOH	Hidróxido de calcio
CHX	Clorhexidina
EDTA	Etilendiaminotetraacético
GI	Grados de libertad
h	Horas
LP	Licopeno
min	Minutos
MP	Extracto de cáscara de mangostán
NaOCl	Hipoclorito de sodio
n_i	Tamaño muestral
PAC	Proantocianidina
PC	Peróxido de carbamida
PH	Peróxido de hidrógeno
PS	Perborato de sodio
RRE	Resorción radicular externa
s	Segundos
sig	Significación
SMB	Metabisulfito de sodio
SOD	Superóxido-dismutasa
TB	Té blanco
UCA	Unión amelocementaria
vit	Vitamina

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1.1-1. Bases de datos consultadas y términos empleados.....	40
Tabla 1.3-1. Agentes antioxidantes aplicados en dentina para mejorar su adhesión	59
Tabla 1.3-2. Estudios en los que se aplica exclusivamente ácido ascórbico	61
Tabla 1.3-3. Estudios en los que la aplicación del ácido ascórbico mejora la adhesión, tiempo y concentración.....	62
Tabla 1.3-4. Estudios en los que la aplicación del ácido ascórbico no mejora la adhesión, tiempo y concentración.....	63
Tabla 1.3-5. Estudios en los que se compara el ácido ascórbico con otro tipo de antioxidante.....	65
Tabla 1.3-6. Estudios en los que se mide la influencia del antioxidante sobre dentina	68
Tabla 3.2-1. Resumen grupos de estudio	85
Tabla 3.2-2. Resumen de todos los productos utilizados en el trabajo experimental	88
Tabla 4.1-1. Test de Shapiro-Wilk. Pruebas de normalidad de las variables. *Gl= grados de libertad; **Sig= significación.	105
Tabla 4.2-1. Valores descriptivos del porcentaje de profundidad de penetración del adhesivo	107
Tabla 4.2-2. Valores descriptivos del porcentaje de área de dentina con profundidad de penetración del adhesivo	109
Tabla 4.2-3. Valores descriptivos del porcentaje de perímetro con penetración del adhesivo.....	111
Tabla 4.3-1. Valores del estadístico F de Snedecor para las variables del estudio (Test ANOVA)	113
Tabla 4.5-1. Comparaciones por grupos de la profundidad de penetración del adhesivo (Test ANOVA. Comparación de Scheffe)	116
Tabla 4.5-2. Comparaciones por grupos del área de dentina con penetración del adhesivo (Test ANOVA. Comparación Games-Howell).....	117
Tabla 4.5-3. Comparaciones por grupos del perímetro con penetración del adhesivo (Test U de Mann-Whitney).....	118

LISTA DE IMÁGENES

Imagen 3.2.1-1. Agua timolada al 0,2%	74
Imagen 3.2.1-2. Especímenes en su recipiente estéril.....	74
Imagen 3.2.2-1. Limpieza de los especímenes con punta de ultrasonido	75
Imagen 3.2.3-1. Apertura de la cámara pulpa con turbina y fresa redonda de turbina	76
Imagen 3.2.3-2. Imagen de la apertura una vez terminada.....	76
Imagen 3.2.3-3. Lima K manual del número 10	76
Imagen 3.2.3-4. Lima única R40 Reciproc.....	76
Imagen 3.2.3-5. Punta de irrigación de 27G de apertura lateral	77
Imagen 3.2.3-6. NaOCl al 6%	77
Imagen 3.2.3-7. Irrigación con punta con salida lateral e NaOCl al 6%	77
Imagen 3.2.3-8. EDTA al 17%.....	78
Imagen 3.2.4-1. 35% de PH (Perfect Bleach Office+).....	79
Imagen 3.2.4-2. Detalle de la introducción del agente blanqueante en la cámara pulpar	79
Imagen 3.2.4-3. Especímenes en su base de silicona con el gel blanqueante	80
Imagen 3.2.4-4. Grupos control positivo y negativo en su base de silicona	80
Imagen 3.2.5-1. Dientes blanqueados y limpios a la espera de ser restaurados en una semana.....	82
Imagen 3.2.5-2. Preparado farmacéutico de ácido ascórbico 10% en emulsión	82
Imagen 3.2.5-3. Dientes blanqueados con la aplicación inmediata de ácido ascórbico	83
Imagen 3.2.5-4. Reserveratrol en solución acuosa	84
Imagen 3.2.6-1. Dientes con el gel de ácido ortofosfórico	86
Imagen 3.2.6-2. Futurabond M+.....	87
Imagen 3.2.6-3. Aplicación del adhesivo con rodamina en el interior de la cámara pulpar	87
Imagen 3.2.6-4. Composite nano-híbrido universal utilizado para la restauración del diente	87
Imagen 3.2.7-1. Disco de diamante de doble cara 943 para pieza de mano Komet.....	89
Imagen 3.2.7-2. Proceso con los cortes cervicales de la muestra.....	90
Imagen 3.2.7-3. Discos de pulido Sof-Lex de diferentes grosores	90

Imagen 3.2.7-4. Preparación de los cortes en portaobjetos.....	90
Imagen 3.2.8-1. Microscopio con focal espectral de Leica SP8 de la Universitat de València	91
Imagen 3.2.9-1. Captura de pantalla en la que se muestra la imagen en microscopía confocal de la sección de un diente en dos aumentos: al 34,07% (en la izquierda) y al 90,91% (en la derecha)	93
Imagen 3.2.9-2. En amarillo, área total del corte, trazada con la herramienta “varita”	95
Imagen 3.2.9-3. En amarillo, área de penetración del adhesivo dentro de los túbulos trazada con la herramienta “polígono”	95
Imagen 3.2.9-4. Trazado del perímetro de la luz del conducto con la herramienta de polilínea	97
Imagen 3.2.9-5. En amarillo, trazado del perímetro de la luz del conducto con la herramienta de elipse	97
Imagen 3.2.9-6. En amarillo (sobre el perímetro total, en rosa), trazado del perímetro penetrado por el adhesivo	98
Imagen 3.2.9-7. En amarillo, línea de penetración máxima de un adhesivo en un túbulo	99
Imagen 3.2.9-8. En amarillo, el túbulo con mayor penetración de adhesivo y en azul, el túbulo de mayor longitud	100
Imagen 4.6.1-1. Detalle del espécimen 1.1: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	119
Imagen 4.6.1-2. Detalle del espécimen 1.2: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	119
Imagen 4.6.2-1. Detalle del espécimen 2.1: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	120
Imagen 4.6.2-2. Detalle del espécimen 2.2: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	120
Imagen 4.6.3-1. Detalle del espécimen 3.1: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	121
Imagen 4.6.3-2. Detalle del espécimen 3.2: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	121
Imagen 4.6.4-1. Detalle del espécimen 4.14: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	122
Imagen 4.6.4-2. Detalle del espécimen 4.18: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	122
Imagen 4.6.5-1. Detalle del espécimen 5.7: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	123
Imagen 4.6.5-2. Detalle del espécimen 5.13: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	123
Imagen 4.6.6-1. Detalle del espécimen 6.7: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	124
Imagen 4.6.6-2. Detalle del espécimen 6.1: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	124
Imagen 4.6.7-1. Detalle del espécimen 7.2: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	125
Imagen 4.6.7-2. Detalle del espécimen 7.20: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha	125

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1-1. Tendencia ascendente de los artículos publicados en base de datos Pubmed sobre “blanqueamiento” desde 1960 a esta parte.....	21
Gráfica 4-1. Representación gráfica del porcentaje de profundidad de penetración en la dentina del adhesivo	107
Gráfica 4-2. Representación gráfica del porcentaje de área de dentina con penetración del adhesivo .	110
Gráfica 4-3. Representación gráfica del porcentaje de perímetro con penetración del adhesivo	112

INTRODUCCIÓN

1 INTRODUCCIÓN

Cuando nos disponemos a obturar el diente sometido a un tratamiento de conductos se presupone que las condiciones del sustrato van a ser las mismas que las del diente con vitalidad. El diente sometido a un tratamiento de conductos tiene unas condiciones totalmente diferentes a las del diente vital por lo que habría que plantear si la terapéutica que se vaya a realizar en estos dientes debiera ser la misma. Las condiciones del diente cambian, así pues, también deberían cambiar los parámetros de las técnicas adhesivas de obturación. Para empezar, este diente ha estado expuesto a diferentes productos de desinfección que podrían cambiar las condiciones de la dentina. Y si, además, el diente no vital es sometido a un tratamiento de blanqueamiento, ¿qué condiciones se van a obtener en la dentina? ¿Se verán alterados los mecanismos de adhesión sobre este sustrato? ¿En qué medida? ¿Es clínicamente relevante? Y si es así, ¿existen métodos para revertir esta situación y acondicionar el sustrato para mejorar esta adhesión? Todas estas preguntas son las que se han planteado antes de iniciar esta investigación y a las que se tratará de dar respuesta a través de la revisión de la bibliografía y de la investigación propia.

1.1 Antecedentes sobre la terapia de blanqueamiento dental

1.1.1 Evolución de la terapéutica de las discoloraciones dentales

La preocupación de gran parte de la población por tener una dentadura sana y bonita proviene de tiempos inmemoriales, aunque la sistematización de las técnicas clínicas comenzó en fechas relativamente recientes. En el siglo XIX se probó la eficacia del PH para aclarar el color del diente y, desde entonces, se ha estudiado el efecto de este producto y sus derivados sobre la estructura del diente y cómo afecta a los diferentes procedimientos que posteriormente se aplican sobre ésta.

Desde que se describieron las primeras técnicas de blanqueamiento, se comenzó experimentando con productos básicamente oxidantes (cloruro de calcio, por Dwinelle en 1848; ácido acético e hidrocloreuro de calcio por Heymann 1864; hidrocloreto de sodio por Woodnut y M'Quillen en 1861 y 1868; ácido oxálico por Chapple en 1877, pirozona (solución de PH al 25% y éter al 75%) por Atkinson en 1892, PH al 30% (superoxol) por Abbot en el 1918 o cloruro de aluminio por Harlan en 1891); aunque también algunos reductores (como el ácido sulfúrico utilizado por Kirk en 1889) que se focalizaron en el diente no vital (Ontiveros, 2011).

En 1950, Franchi describió que los productos más eficaces para blanquear el diente no vital eran los basados en pirozona, superoxol y dióxido de sodio (Alqahtani, 2014).

Como se ha mencionado, estos productos fueron pensados para blanquear el diente no vital y no fue hasta 1868 cuando se pensó en crear las técnicas de blanqueamiento vital; para éstas fueron utilizados productos como el ácido oxálico (Latimer, 1868), pirozona (Atkinson, 1892) y el PH (Fisher, 1911, citado por Alqahtani, 2014).

En 1918, Abbot introdujo el PH al 30%, convirtiéndose en la sustancia más utilizada por dentistas ya que atribuía mayor seguridad a la técnica, porque, por esta época, seguía utilizándose la pirozona. Entre 1950 y 1960 también se introdujo el perborato de sodio y, en 1976, Nutting y Poe empezaron a utilizar el superoxol en combinación con el perborato de sodio para conseguir un efecto sinérgico, iniciando así una técnica ambulatoria de blanqueamiento no vital, y recomendando el sellado cervical de la gutapercha del conducto antes de realizar cualquier procedimiento de blanqueamiento (Alqahtani, 2014).

En 1960 Klusmier, por un hallazgo casual, documentó el primer blanqueamiento domiciliario con férulas con peróxido de carbamida (PC) al 10%. Posteriormente, en 1989, el blanqueamiento domiciliario con férulas con PC al 10% fue descrito y denominado así en el artículo de Haywood y Heymann (Sasaki y cols., 2009), lo cual fue un antes y un después en la introducción de diferentes técnicas y productos de blanqueamiento domiciliario.

En 1998, Matis y su grupo de investigación (2003) describieron en su artículo que el blanqueamiento se considera una técnica segura y efectiva en la que conseguían una gran aceptación en pacientes que, generalmente, no accedían a realizarse grandes tratamientos estéticos.

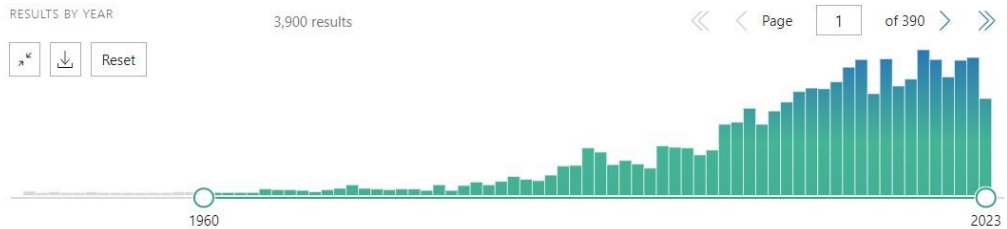
Hoy en día, se utilizan diferentes concentraciones de PH (H_2O_2), desde el 15% hasta el 40%, con o sin activación con luz (Ontiveros, 2011) u otros medios, de PC y de perborato de sodio (PS) (Chauhan y cols., 2017).

El peróxido de carbamida ($\text{CH}_6\text{N}_2\text{O}_3$) en gel se disocia formando PH y sus efectos sobre la estructura dentaria han sido estudiados sugiriendo un proceso oxidativo controlado en el que la parte orgánica del esmalte es movilizada sin producir un daño estructural aparente en la estructura del esmalte (Chauhan y cols., 2017).

La composición química del PS es NaBO_3 aunque se cristaliza como monohidrato ($\text{NaBO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), trihidrato ($\text{NaBO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) y tetrahidrato ($\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). El PS es un producto oxidante presentado en formato polvo. En presencia de agua, se disocia para formar PH, oxígeno y borato de sodio. Este producto en presentación polvo-agua es prácticamente inocuo para la estructura dentaria (Chauhan y cols., 2017).

El blanqueamiento dental se hace tanto en dientes con integridad funcional completa (dientes con vitalidad del complejo pulpar) y también en dientes a los que se les ha sometido previamente a un tratamiento de conductos. El uso de productos blanqueadores tiene no solo efectos sobre el color final del diente, sino que también produce otras modificaciones sobre el diente tanto vital como no vital (sometido a un tratamiento de conductos) que debe conocer el/la profesional y de las cuales debe informar a la persona que va a recibir el tratamiento.

Cada vez más pacientes acuden en búsqueda de una sonrisa más blanca, que les confiera una sensación de mayor juventud. Esto no solo les aumenta la autoestima, sino que además les aporta mayor seguridad en su situación social (Sasaki y cols., 2009; Zanolla y cols., 2017). De aquí, el hecho de que cada vez más se practiquen las técnicas de blanqueamiento y se investigue sobre los efectos y aplicaciones de éstas en aras de ofrecer el tratamiento más eficaz y seguro. Si introducimos el término “*tooth bleaching*” en la base de datos Pubmed, podemos observar como la cantidad de artículos desde 1988 a esta parte ha crecido exponencialmente, como se muestra en la gráfica siguiente ([Gráfica 1-1](#)).



Gráfica 1-1. Tendencia ascendente de los artículos publicados en base de datos Pubmed sobre “blanqueamiento” desde 1960 a esta parte

A continuación, revisaremos los distintos aspectos relacionados con el proceso del blanqueamiento de los dientes.

1.1.2 Tipos de agentes blanqueantes

Los agentes de blanqueamiento más utilizados son el peróxido de hidrógeno (PH), el peróxido de carbamida (PC) y el perborato de sodio (PS).

El Peróxido de hidrógeno, H_2O_2 , es el principal agente activo empleado para el uso del blanqueamiento. Este compuesto puede aplicarse de forma directa o puede conseguirse de la descomposición de otros productos como el PS o el PC (Plotino y cols., 2008). El PH es utilizado como agente blanqueante en diferentes concentraciones, entre un 5 a un 40% (Alqahtani, 2014). A altas concentraciones es cáustico, quema los tejidos circundantes. Produce radicales libres. La manipulación de este producto en altas concentraciones debe ser llevada a cabo con extrema precaución ya que es termodinámicamente inestable y puede explotar si no se

mantiene a bajas temperaturas en contenedores oscuros. El PH es un efectivo agente blanqueante, aunque su uso en altas concentraciones ($\geq 30\%$) debe utilizarse con precaución por su relación con algunos efectos adversos, como la resorción radicular cervical externa (Madison y Walton, 1990; Zimmerli y cols., 2010).

Son muchos los estudios que utilizan el PH para comprobar el efecto sobre la superficie del diente y su influencia sobre la adhesión posterior (Nascimento y cols., 2013; Abed Kahnemooyi y cols., 2014; Hansen y cols., 2014; Alencar y cols., 2016; Türkmen y cols., 2016; Cavalli y cols., 2018; de Almeida y cols., 2019).

El peróxido de carbamida, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2 \cdot (\text{H}_2\text{O}_2)$ o $\text{CH}_6\text{N}_2\text{O}_3$, es un compuesto orgánico cristalino blanco formado por la unión de urea y PH y es utilizado para blanquear en diferentes concentraciones. En un ambiente hidrofílico, se descompone en 7% de urea y 3% de PH. Se le añade glicerina para conseguir un producto químicamente más estable que el PH (Plotino y cols., 2008).

El perborato de sodio, NaBO_3 , es un agente oxidativo disponible en formato polvo. Cuando se encuentra en seco, es muy estable; sin embargo, en presencia de agua, ácido o aire caliente se descompone formando PH, metaborato de sodio y oxígeno. El PS es más fácil y seguro de controlar que las soluciones concentradas de PH (Plotino y cols., 2008). Hay que añadir que, en estos momentos, la legislación de la Comunidad

Europea no permite su uso como agente blanqueador. Según el Reglamento (CE) nº1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de diciembre de 2006, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), se consideran los compuestos de boro tóxicos para la reproducción y se prohíben para su uso cosmético.

1.1.3 Técnicas de Blanqueamiento

1.1.3.1 Blanqueamiento vital

Esta técnica se emplea generalmente cuando el objetivo es blanquear toda una arcada por discoloraciones generalizadas o cuando el/la paciente quiere cambiar el color de sus dientes por motivos estéticos. Se suelen emplear agentes blanqueantes en bajas concentraciones y, según el tipo de blanqueante, puede realizarse en clínica o puede realizarse un tratamiento domiciliario.

Existen multitud de estrategias para acometer el blanqueamiento en dientes vitales que incluyen tanto técnicas realizadas en la clínica, como domiciliarias o combinadas. En la clínica: técnicas de pulido aire-polvo; erosivo-abrasivas; de activación química; de activación por calor; fotoactivadas; de activación sónica; o con gases hiperoxidantes (O₃). Domiciliarias: técnicas de cepillado dental; con barniz; con tiras, con cubetas

preformadas, con férulas individualizadas. (Plotino y cols., 2008; Carey, 2014; de Geus y cols., 2016; Llena y cols., 2018).

1.1.3.2 Blanqueamiento no vital

El blanqueamiento de dientes tras un tratamiento de conductos es una alternativa terapéutica más conservadora que la colocación de carillas o coronas cuando el objetivo es simplemente cambiar el color de los dientes. También es una herramienta útil para mejorar el color del sustrato antes de colocar una restauración definitiva.

Disponemos de diferentes técnicas para ejecutar el blanqueamiento no vital, como son:

- Técnica Domiciliaria: La primera publicación de esta técnica data de 1938 y proponía introducir dentro de la cámara pulpar una mezcla de PS y agua destilada, sellar el acceso cameral y dejarlo actual durante unos días. Posteriormente, Natting y Poe abogarían por el uso de peróxido de hidrógeno al 30% en vez de agua para incrementar la eficacia blanqueadora. Hoy en día, se siguen utilizando mezclas de PS o PC con agua para la ejecución de esta técnica de blanqueamiento intracoronal (Plotino y cols., 2008). Actualmente, esta técnica se ejecuta con férulas individualizadas.

- **Técnica Termocatalítica:** Esta técnica implicaba los mismos pasos que los descritos anteriormente en la técnica domiciliaria, introduciendo un PH en altas concentraciones (30-35%) y activándolo con calor a través de un instrumento eléctrico o lámparas *ad hoc*. Como consecuencia de las complicaciones derivadas de esta técnica (fundamentalmente de la resorción radicular cervical externa), esta técnica está actualmente en desuso.
- **Técnica en la clínica:** En esta técnica, se utilizan los mecanismos de sellado coronal del conducto y se introduce en el interior de la cámara un PC o PH en altas concentraciones (15-35%). El diente debe estar aislado y se puede aplicar el agente blanqueante externamente en el diente y en el interior de la cámara pulpar (Plotino y cols., 2008). Pueden utilizarse técnicas de activación química o fotoactivada.

1.1.4 Mecanismo de acción de los agentes blanqueantes

Para comprender el mecanismo de acción de los agentes blanqueantes hay que conocer el funcionamiento del PH en contacto con los compuestos de la superficie dental. El PH es un agente oxidante que, al penetrar en el diente, se disocia en productos muy inestables: radicales hidroxilos ($\text{HO}^\cdot$), radicales perhidroxilos ($\text{HOO}^\cdot$), aniones hidroperoxilos (HOO^-) y aniones superóxidos (OO^-). Estos radicales libres

atacan las moléculas pigmentadas que se sitúan entre los espacios de las sales inorgánicas del esmalte atacando los dobles enlaces de las moléculas cromóforas (Dahl y Pallesen, 2003; Joiner, 2006; Minoux y Serfaty, 2008). Al romper estos dobles enlaces, las largas y pesadas moléculas cromógenas se convierten en moléculas mucho más ligeras capaces de ser liberadas por los tejidos dentales (Zimmerli y cols., 2010). Existirá, en consecuencia, un cambio en el espectro de absorción de luz del diente, con lo que, el blanqueamiento se hará efectivo de forma visual (Alqahtani, 2014).

Tras el intercambio de radicales libres y los cambios químicos permanece en la estructura dentaria un oxígeno residual que será el responsable de una inhibición de la polimerización de las partículas de los materiales de restauración basados en el composite (Chauhan y cols., 2017).

El PH y su precursor, el PC, actúan a través de aniones perhidroxilos (HO_2). Estos pueden comprender concentraciones entre el 3 y el 40% de PH equivalente (Alqahtani, 2014). El PC ($\text{CH}_4 \text{ N}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2$) es un compuesto orgánico que contiene PH y urea. Un 10% de PC corresponde a un 3,5% de PH (Zimmerli y cols., 2010).

El PS puede presentarse en las formas de mono ($\text{NaBO}_2\text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), tri ($\text{NaBO}_2\text{H}_2\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ó tetrahidrato ($\text{NaBO}_2\text{H}_2\text{O}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). Cuando entra en contacto con

agua, libera H_2O_2 , es decir, acaba actuando de la misma manera que el PH, pero con una menor concentración.

1.1.5 Efectos del blanqueamiento sobre el diente

Pese que el blanqueamiento ha probado ser eficiente y beneficioso en ciertos aspectos, se conocen muchos efectos indeseables a tener en cuenta (Zimmerli y cols., 2010; Carey, 2014; Alqahtani, 2014), como se detalla a continuación.

1.1.5.1 Efectos sobre la pulpa

Ya en 1918 Abbot demostró que los efectos del blanqueamiento pueden ser incrementados con el uso del calor. Si aumentamos $10^{\circ}C$, con luz de alta intensidad o instrumentos calientes, aceleramos hasta el doble la capacidad de blanqueamiento. Sin embargo, los efectos adversos también se agravan, causando daños irreparables a la pulpa (Joiner, 2006).

Como se ha citado anteriormente, el agente blanqueante es capaz de difundir a través del esmalte y dentina hasta llegar a pulpa. De Lima y cols., (2009) probaron el efecto citotóxico de los agentes blanqueantes sobre los odontoblastos, concluyendo que, a mayor concentración, mayor daño pulpar. Además, el agente blanqueante es capaz de difundir más rápidamente hasta la pulpa en zonas de dentina expuestas en recesiones

gingivales, abrasiones, erosiones, gaps entre esmalte y cemento en la unión amelocementaria o entre restauración y dentina (Lima y cols., 2010).

Los radicales libres liberados en la reacción de descomposición del PH son capaces de provocar un estrés oxidativo en las células pulpaes, generando, en consecuencia, peroxidación lipídica, alteraciones oxidativas de la proteínas y daños en el ADN celular (Dias Ribeiro y cols., 2009).

La resorción radicular externa (RRE) es una complicación derivada del blanqueamiento no controlado (Madison y Walton, 1990). Fue primeramente descrita por Harrington y Natkin en 1979. Como se ha explicado anteriormente, en los inicios del blanqueamiento, se utilizaban productos a altas concentraciones con activación, en ocasiones con calor generando en muchas ocasiones estas resorciones cervicales. Con el tiempo, se aprendió y se corrigieron algunos parámetros para que los procedimientos fueran más seguros. Así pues, se bajaron las concentraciones del PH, se empezó a utilizar el PC y, en 1979, Harrington y Natkin describieron la aplicación de una base cavitaria sobre la parte más coronal del conducto radicular (en el caso de los blanqueamientos no vitales). Con todos los protocolos modernos de blanqueamiento, no hay evidencia actual que relacione el riesgo de RRE con las técnicas de blanqueamiento contemporáneas.

La etiología y la patogénesis de la RRE sigue sin ser del todo comprendida. Se sospecha que puede estar asociada a la falta de cemento en la unión amelocementaria (UCA) resultando en una exposición de dentina. Esta dentina expuesta en contacto con el agente blanqueante parece ser la responsable de activar una respuesta inmune de reclutamiento de células clásticas a la zona, que provocarían la resorción radicular cervical (Gold y Hasselgren, 1992; Fuss y cols., 2003).

1.1.5.2 Efectos sobre la estructura dentaria

1.1.5.2.1 Influencia del pH del agente blanqueador

El pH del agente blanqueador es muy variable según las marcas comerciales. En el estudio de Price y cols. (2000), los productos blanqueantes analizados variaban de pH entre 3 (muy ácido) y 11 (muy básico). La influencia de este valor es muy importante. Cuando el pH baja de 5,2, se inicia la desmineralización y la resorción radicular. Según este estudio, cuando el esmalte es sometido a agentes blanqueantes con niveles extremos de pH, o muy ácidos o básicos, puede observarse como resultado la erosión en este tejido, cuando se utiliza en periodos prolongados. Estos efectos pueden minimizarse añadiendo pequeñas cantidades de calcio a los productos blanqueantes ácidos reduciendo así la erosión al 50%.

En la búsqueda de la optimización de los agentes blanqueantes, se ha luchado por obtener agentes blanqueantes neutros, añadiéndoles hidróxido de sodio o hidroxiapatita, convirtiéndolos así en productos mucho menos destructivos para el esmalte. Esto es así ya que estas sales alcalinas se adhieren al esmalte evitando que los peróxidos tengan un contacto directo sobre el esmalte, actuando así de pantalla protectora (Sun y cols., 2011). Se consigue así el mismo efecto blanqueador, pero menos efectos nocivos para el esmalte.

La ausencia de daños microestructurales en el esmalte blanqueado con PH se explica si se supone que la reacción de oxidación ocurre en la dentina en vez de en el esmalte, influyendo, además, en un mayor blanqueamiento sin repercusiones en la superficie de aquél. Cuando existe, este daño erosivo del PH en el esmalte se limita al esmalte más superficial y no al más profundo ni a la dentina (Xu y cols., 2011).

Lo lógico sería pensar que cuanto más alcalino sea el agente blanqueador más beneficioso, pero tampoco hay estudios que lo avalen. Es más, todo lo contrario, existen investigaciones que han probado que los agentes blanqueantes más alcalinos también producen efectos adversos sobre la morfología del esmalte, ya que acelerarían la reacción de oxidación-reducción. Esto se explicaría por la ratio PH: sosa cáustica necesaria para la creación de un agente blanqueante alcalino, que sería superior, acelerando el proceso oxidativo y la liberación de oxígeno y calor, generando,

en consecuencia, daños irreversibles en el esmalte (Araujo y cols., 2013; Jurema y cols., 2018).

Los fluctuantes niveles de pH de los agentes blanqueantes generan muchos resultados diferentes a la hora de estudiar su efecto sobre la estructura dentaria. Estas diferencias son así por la gran variedad de excipientes añadidos en los agentes para modificar su pH. Entre ellos se encuentran: hidróxido de sodio, bicarbonato de sodio, carbonato de sodio y bicarbonato de potasio. Tras los estudios realizados se concluyó que los iones de potasio tuvieron mayor efecto blanqueante que los iones de sodio; que los iones de bicarbonato tuvieron mayor efecto blanqueante que los iones de hidróxido y los carbonatos. Por tanto, el mayor efecto blanqueante de PH se obtuvo cuando se añadió el bicarbonato de potasio como controlador del pH (Basting y cols., 2005).

1.1.5.2.2 Cambios estructurales en la dureza del esmalte

El blanqueamiento puede tener efectos sobre la dureza del esmalte, haciéndolo más susceptible a la deformación y fractura (Mondelli y cols., 2015). En el proceso de oxidación de los componentes orgánicos e inorgánicos del esmalte, cuando se somete a un blanqueamiento, se producen unos cambios en la morfología del esmalte con porosidades y microgrietas, causando una reducción en la dureza de la superficie (Attin y cols., 2009). Los estudios orientados en este sentido emplean los tests de Knoop y Vickers para el estudio de la dureza y microdureza del esmalte (Attin y cols., 2009).

Los agentes blanqueadores con un pH más ácido producen mayor reducción en la dureza del esmalte en comparación con aquellos neutros o ácidos (Araujo y cols, 2013). También se ha sugerido que el tipo de activación (LED, laser de argón o luz halógena) influye en la reducción de la microdureza del esmalte (Araujo y cols., 2010).

Existen multitud de estudios que tratan explicar cómo los agentes blanqueantes afectan a la superficie del esmalte (Llena y cols., 2017), pero sin resultados del todo concluyentes debido a las diferentes variables de cada estudio (concentración del blanqueante, pH, tiempo de aplicación, tipo de activación, posterior remineralización, estudio *in vivo* o *in vitro*) que afectan al resultado final. No obstante, diversos trabajos de investigación (Rodrigues y cols., 2005; Joiner, 2007; Zantner y cols., 2007) concluyeron que estos efectos no son clínicamente relevantes sobre esmalte y dentina y que las diferencias registradas según los diferentes artículos revisados se deben al pH del agente blanqueante y al tipo de estudio (*in vivo* o *in vitro*: por el efecto de la saliva y su remineralización).

Otros estudios insisten en la importancia de la aplicación de fluoruros, láser CO₂ o nanohidroxiapatita para restaurar la apariencia del esmalte blanqueado y aumentar la microdureza del esmalte (Moosavi y Darvishzadeh, 2016).

1.1.5.2.3 Cambios en la rugosidad del esmalte

Los productos liberados del peróxido de carbamida y de hidrógeno crean porosidades, hendiduras y grietas en el esmalte, convirtiéndolo en rugoso y más susceptible a tinciones extrínsecas, cuando se ha estudiado *in vitro* (Pinto y cols., 2004; Shannon y cols., 1993). Los estudios destinados a este propósito emplean la observación por microscopía electrónica de barrido. Sin embargo, al replicar estos estudios *in vivo*, no se han podido contrastar los resultados. Joiner (2007), tras su revisión, aconseja, para evitar la rugosidad en el esmalte la utilización de agentes blanqueantes en bajas concentraciones, evitando los productos con pH bajo y en cortos periodos de aplicación.

1.1.5.2.4 Pérdida de esmalte en la superficie del diente

Muchos agentes blanqueantes con pH ácido y capacidad erosiva contribuyen a una pérdida de la materia inorgánica del esmalte (Demarco y cols., 2011). La activación con luz también puede influenciar de manera negativa sobre la pérdida de sustancia del esmalte (Kossatz y cols., 2011; Coceska y cols., 2016). Con el objetivo de minimizar la pérdida de sustancia, se han propuesto diferentes sustancias para estabilizar el nivel de calcio y fosfato en la saliva, mejorando su capacidad tampón y favoreciendo la remineralización de la superficie del esmalte. Los beneficios atribuidos a los agentes

remineralizantes justifica en gran medida su uso durante o después del blanqueamiento (Singh y cols., 2010; Low y cols., 2015; Coceska y cols., 2016).

1.1.5.2.5 Cambios en el color

Los cambios de color de la estructura dentaria se deben a muchos factores como el pH del agente blanqueante, su concentración, el tipo de agente, el método de activación, temperatura o la incorporación de catalizadores (Sulieman, 2004). Según la revisión de Geus y cols. (2018), no por utilizar un agente blanqueador (PC, en este caso) a mayores concentraciones, se blanquea más el diente. Es más, este estudio mantiene que con menores concentraciones se disminuye el riesgo de sensibilidades postoperatorias.

Está probado que el agente blanqueante tarda entre 5 y 15 minutos en penetrar el esmalte, atravesar la dentina y llegar hasta pulpa (Matis, 2003; Haywood y Al Farawati, 2019). A medida que se alcanza este tiempo de conversión, el incremento en concentración lo único que fomentaría sería un aumento de las sensibilidades y de la irritación gingival (Matis, 2003; Haywood y Al Farawati, 2019).

Existe mucha controversia en cuanto a la aplicación de fuentes de luz para mejorar el color final. Si bien está demostrado que la luz acelera el proceso de blanqueamiento, no está bien probado que mejore el cambio de color, existe mucha controversia al

respecto (Kossatz y cols., 2011; Ontiveros, 2011; Domínguez y cols., 2011; Polydorou y cols., 2013; Coceska y cols., 2016).

1.1.5.2.6 Cambios en la resistencia a la fractura

Los daños a la estructura dentaria asociados al blanqueamiento no se califican como considerables, sin embargo, se ha estudiado el efecto de estos productos sobre el diente. Según algunos trabajos de investigación, la aplicación de los agentes blanqueantes disminuye la resistencia a la fractura de los dientes (Khoroushi y cols., 2019) aunque muchos opinan que esta disminución se ve recuperada tras 14 días remineralizándose en saliva (de Freitas y cols., 2002; Basting y cols., 2003; Tam y Noroozi, 2007).

1.1.6 Efectos de los productos blanqueadores sobre la unión de los tejidos mineralizados del diente con los materiales restauradores

Los agentes de blanqueamiento como el PC, el PH o el PS son capaces, por tanto, de producir cambios en la estructura y composición del esmalte y de la dentina. La disminución en la microdureza del esmalte y de la dentina compromete una pérdida del componente mineral del tejido duro dental (Cavalli y cols., 2012). La explicación, por tanto, de la disminución en la fuerza de unión en las restauraciones aplicadas inmediatamente después de un tratamiento de blanqueamiento radica en los cambios

estructurales que se producen en el esmalte y dentina, como la formación de poros y el consecuente atrapamiento de oxígeno residual, dificultando la polimerización de agente adhesivo y reduciendo el número, las dimensiones y la calidad de las digitaciones de resina que penetran en el esmalte tratado (Olmedo y cols., 2021).

Los cambios en la estructura dental y el oxígeno residual que permanece en la superficie dental tras el blanqueamiento pueden interferir en la adhesión del sistema adhesivo y, por tanto, en la fuerza de unión de la restauración de composite a la estructura dentaria (Cavalli y cols., 2012; Vieira y cols, 2012; Hansen y cols., 2014; Trindade y cols., 2016). Con ello, se corresponde también un mayor microfiltrado (Khoroushi y cols., 2019). Este composite no polimerizado en contacto directo con la superficie dental dura daría lugar a una interfase blanda que no sería capaz de aguantar las fuerzas de tracción.

En los blanqueamientos internos en un diente, después de un tratamiento de conductos, hay que tener en cuenta que se realiza una caja palatina o lingual que, posteriormente, debe ser sellada. Si no se consigue un buen sellado con el sistema adhesivo pueden aparecer microdespegamientos, fallos adhesivos, microfiltraciones y caries secundarias, eventualmente (Cavalli y cols., 2012, Hansen y cols., 2014).

Attin y cols., en su artículo de revisión (2004), al margen del oxígeno residual que pudiera inhibir la polimerización de las resinas, indica que las consecuencias en la adhesión tras la técnica de blanqueamiento se pueden deber a varios factores: una disminución del calcio y fosfato en esmalte que ocasionen cambios morfológicos en los prismas del esmalte más superficial; que el resultado de grabar con ácido una superficie blanqueada resulte en una superficie excesivamente grabada por la pérdida de estos primas del esmalte; y una alteración de la matriz orgánica del esmalte y dentina a consecuencia del proceso de oxidación del PH.

1.1.6.1 Efecto de los agentes blanqueantes en la unión de las resinas compuestas a esmalte

En el metaanálisis de Imani y cols., de 2020 se estudió cómo afecta el PH a la adhesión sobre el esmalte. Se analizó este agente blanqueante en sus diferentes concentraciones y cómo afectaba a la adhesión. Concluyeron que el blanqueamiento con PH siempre disminuye la fuerza de adhesión, especialmente si el tiempo de intervalo entre el blanqueamiento y el procedimiento adhesivo es corto y si se emplea un PH en altas concentraciones (Imani y cols., 2020).

Al parecer, la mayor reducción en la adhesión se observa en los grupos en los que utilizan PH en concentraciones iguales o superiores al 35% (Mirhashemi y cols., 2015; Nascimento y cols., 2013; Akin y cols., 2013; Yadav y cols., 2015; do Rego y cols., 2013;

Abe y cols., 2011; Aksakalli y cols., 2013; Kunjappan y cols., 2013; Ozdemir y cols., 2013; Patusco y cols., 2009; Türkkahraman y cols., 2007). Al observar la influencia del tiempo sobre la adhesión, si se aplica el material de obturación inmediatamente después del proceso de blanqueamiento (Abe y cols., 2011; Akin y cols., 2013; Aksakalli y cols., 2013; Kunjappan y cols., 2013; Mirhashemi y cols., 2015; Yadav y cols., 2015) se obtienen peores resultados (en comparación con la espera de un día, de un día a una semana y de dos o más semanas de espera).

Al analizar factores como la concentración y el tiempo de espera conjuntamente, muchos autores observan que, cuando se aplica PH en bajas concentraciones (menor del 35%), la reducción en la fuerza de unión no es significativa, independientemente del tiempo de espera (Bishara y cols., 2005; Turgut y cols., 2011; Nascimento y cols., 2013; Andrighetto y cols., 2016). Por contra, en los grupos en los que la concentración del PH es del 35% (Uysal y cols., 2003; Türkkahraman y cols., 2007; Patusco y cols., 2009; Abe y cols., 2011; Nascimento y cols., 2013; Akin y cols., 2013; Kunjappan y cols., 2013; do Rego y cols., 2013; Yadav y cols., 2015), se observa una reducción significativa en la fuerza de unión cuando se procede a la adhesión a partir de las 24 horas. Y en los grupos en los que se utiliza PH en concentraciones superiores al 35% (Akin y cols. 2013; Aksakalli y cols., 2013; Ozdemir y cols., 2013; Mirhashemi y cols., 2015) la fuerza de

unión se ve sustancialmente reducida en cualquiera de los grupos independientemente del tiempo.

El efecto del agente adhesivo también influye en las técnicas de adhesión en esmalte. El gran reto de los adhesivos, desde que surgieron más de cincuenta años atrás, ha sido siempre el de conseguir la unión a dos tejidos mineralizados de diferente naturaleza. La unión a esmalte ha sido siempre más duradera. La unión a dentina es mucho más intrincada y, aparentemente, parece que mejor se logra cuanto más complicada y más pasos requiere la técnica adhesiva (Van Meerbeek y cols., 2011).

1.1.6.2 Efecto de los agentes blanqueantes en la unión de las resinas de composite a dentina

Cuando se refiere a la dentina, se encuentran muy pocas publicaciones al respecto. En los estudios que se centran en cómo la concentración del agente blanqueante afecta la adhesión en dentina, la mayoría de los estudios indican que el efecto del agente blanqueante influye negativamente sobre ésta. (Elkhatib y cols., 2003; Feiz y cols., 2011; Fernandes y cols., 2015; Haruyama y cols., 2016). Algunos (Khoroushi y Saneie, 2012 y Hansen y cols., 2014) proponen esperar al menos una semana para revertir este efecto nocivo.

La búsqueda bibliográfica acerca de este tema (blanqueamiento y adhesión en dentina) muestra la poca cantidad de artículos que existen al respecto.

Al juntar en las diferentes bases de datos (Pubmed, Web of Science, Embase, Cochrane y Scopus) los términos clave: “bleach*” AND “bond*” OR “adhes*” AND “endod*” OR “sodium hypochlorite” OR “dentin*” (Tabla 1.1-1) y, tras realizar la lectura y el filtrado de los artículos recabados, aparecen 12 artículos que recogen todas estas características en sus estudios (Pamir y cols., 2006; Feiz y cols., 2011; Khoroushi y Saneie, 2012; Briso y cols., 2014; Yoon y cols., 2014; Hansen y cols., 2014; Fernandes y cols., 2015; Whang y Shin., 2015; Haruyama y cols., 2016; Omrani y cols., 2016; Trindade y cols., 2016; Jung y cols., 2017).

Términos empleados en la búsqueda
Web of Science
((ALL=“sodium hypochlorite” OR endod* OR dentin*)) AND ALL= (adhes* OR bond*) AND ALL (bleach*)
Pubmed (MEDLINE)
(“sodium hypochlorite” OR endod* OR dentin*) AND (adhes* OR bond*) AND (bleach*)
Embase
(“sodium hypochlorite” OR endod* OR dentin*) AND (adhes* OR bond*) AND (bleach*)
Cochrane: Topics: Dentistry & oral health and Dental caries
(“sodium hypochlorite” OR endod* OR dentin*) AND (adhes* OR bond*) AND (bleach*) in All Text
Scopus
(“sodium hypochlorite” OR endod* OR dentin*) AND (adhes* OR bond*) AND (bleach*)

Tabla 1.1-1. Bases de datos consultadas y términos empleados

En el artículo de Fernandes y cols. (2015), se estudia en profundidad cómo una técnica de blanqueamiento interno, aplicando un PH al 35% en dentina, afecta a la fuerza de unión de un adhesivo, pero no simulan previamente un tratamiento de conductos (es decir, no aplican ningún irrigante como el hipoclorito de sodio (NaOCl) sobre esta dentina blanqueada) y estudian cómo esto afecta a la adhesión de brackets en esmalte. Asumen que la fuerza de unión en dientes blanqueados internamente se ve afectada exclusivamente por el efecto del agente blanqueante y, aunque actúan en el interior de la cámara pulpar, no utilizan previamente ningún irrigante. Se centran en comparar dos tipos de sistemas adhesivos (de grabado total y autograbantes) y concluyen que el sistema autograbante es mejor para conseguir una mejor adhesión en dientes blanqueados.

Haruyama y cols. (2016), persiguen en su estudio averiguar cómo el agente blanqueante puede afectar la fuerza de unión de dos tipos de adhesivos autograbantes a una dentina intracameral, pero tampoco utilizan ningún irrigante previamente. Concluyen que un PH en altas concentraciones (30%) ofrece resultados inadmisibles en cuanto a adhesión en dentina, en comparación con un PH en bajas concentraciones (3,5%). Además, aconsejan el uso de un adhesivo autograbante en dos pasos frente al adhesivo autograbante de un solo paso, ya que ofrece mejores resultados en sus tests de fuerza. Asumen, al igual que el anterior artículo, que la fuerza de unión de estos

dientes blanqueados internamente se ve afectada exclusivamente por el efecto del agente blanqueante.

En el artículo de Whang y Shin (2015), se analiza cómo el blanqueamiento con peróxido de carbamida al 15% afecta la adhesión en dentina y si el hecho de aplicar un agente antioxidante revierte los efectos indeseables del blanqueamiento sobre la adhesión y, si estos, son comparables a los de esperar una semana. Otra vez, estudian adhesión sobre dentina intracameral sin tratarla previamente con los agentes irrigantes.

Briso y cols., 2014, estudian como dos tipos de agentes blanqueantes (PC y PH) influyen sobre la adhesión y aplican ácido ascórbico para revertir el efecto indeseable de los blanqueantes. Feiz y cols. (2011) también se centran en observar los efectos de un antioxidante para revertir los efectos del blanqueamiento sobre dentina. Hansen y cols. (2014), Yoon y cols. (2014), Omrani y cols. (2016), Trindade y cols. (2016) y Jung y cols. (2017) estudiaron el efecto de diferentes tipos de antioxidantes sobre la fuerza de unión de un diente sometido a un tratamiento de blanqueamiento no vital, pero tampoco emplearon un NaOCl previo sobre la superficie de la dentina. Así pues, en ninguno de estos artículos se usó un tratamiento combinado de PH y de hipoclorito de sodio en la dentina.

Solo en el artículo de Pamir y cols. (2006) se estudia el efecto del PH y del NaOCl sobre dentina, pero no en un uso combinado. El PH se utiliza al 3% más como un producto antibacteriano que blanqueante y crearon grupos diferentes de estudios en los que irrigaron con ambos productos, PH al 3% y NaOCl al 5% para luego ver como se afectaba la adhesión de un adhesivo autograbante.

La influencia del agente blanqueante y su repercusión en la adhesión en dentina tratada previamente con irrigantes endodónticos no ha sido muy estudiada o, al menos, no existe un procedimiento claro que ofrezca la óptima adhesión en este sustrato. Entre los protocolos actuales de adhesión en un diente no blanqueado, se considera apropiado realizar un grabado ácido de la superficie del esmalte que se va a tratar, así como evitarlo en el caso de la dentina, por considerarlo demasiado agresivo. También se considera adecuado un sistema adhesivo autograbante que incorpore entre sus componentes monómeros funcionales con alta afinidad a la hidroxiapatita (Van Meerbeek y cols., 2011). Como sabemos, la superficie de la dentina que va a ser tratada está cubierta por el barrillo dentinario. Para poder unirse a la dentina, es necesario disolver en parte éste para poder penetrar en los túbulos dentinarios y poder garantizar una correcta unión a la dentina. Aquí entra en acción el tipo de solvente que contenga el sistema adhesivo. El reto estará en disolver el barrillo dentinario sin desmineralizar demasiado la superficie dental. Al preservar la hidroxiapatita, se

protege el colágeno de la agresión química externa y se consigue calcio (de la hidroxiapatita preservada), necesario para la unión química con el monómero funcional del sistema adhesivo. Este tipo de enlace químico previene la degradación de la unión dentina-resina producida por un exceso de desmineralización (Haruyama y cols., 2016)

La penetración del sistema adhesivo dentro de los túbulos de esta estructura desmineralizada favorece la formación de esta capa híbrida que restaura la resistencia estructural de la zona grabada, así como previene la microfiltración. Por tanto, una pobre penetración de la resina en los túbulos dentinarios dará lugar a una fina capa híbrida dando lugar a valores de fuerza de unión bajos (Briso y cols., 2014).

Los adhesivos autograbantes son considerados actualmente como los más indicados para acometer este tipo de unión en dentina. Ahora bien, como todo, existen muchos tipos de adhesivos autograbantes en el mercado y nos surge la duda de cuál es el mejor sistema para aplicar en una dentina blanqueada. El *gold standard* se consideraría el sistema adhesivo autograbante de 2 pasos. Debido a la existencia de un monómero ácido, esmalte y dentina pueden ser acondicionadas en un solo paso, y su ácido, al ser poco agresivo, desmineraliza la dentina hasta cierto punto, pero siempre dejando los cristales de hidroxiapatita alrededor de las fibras de colágeno. Pero en los recientes años, los adhesivos autograbantes de un solo paso están en auge por su comodidad de

aplicación y, consecuentemente, son los más disponibles comercialmente. Este tipo de sistema combina componentes hidrofílicos e hidrofóbicos en sus solventes, como son la acetona, el etanol y el agua. Con esto, se unen las acciones de grabar, imprimir y adherir en un solo paso, simplificando consecuentemente el proceso de restauración y reduciendo el tiempo de trabajo (Haruyama y cols., 2016). En el trabajo anterior, se estudió la adhesión en dentina tras el tratamiento de blanqueamiento y se concluyó que el agente blanqueante disminuía la fuerza de adhesión, que un agente blanqueante de menos concentración disminuye en menor grado la adhesión al diente y que el sistema adhesivo autograbante de 2 pasos es más efectivo a la hora de garantizar la adhesión tras el blanqueamiento.

Fernandes y cols., en 2015, también estudiaron los diferentes tipos de sistemas adhesivos y su efecto sobre la dentina blanqueada, observando mejores resultados en los grupos de los autograbantes que en los de grabado total.

1.2 Efectos del hipoclorito de sodio sobre la unión de los tejidos mineralizados del diente a los materiales restauradores

Entre las bases de un buen tratamiento de conductos se encuentran la correcta conformación y la limpieza del sistema de conductos. Dado que la anatomía radicular de muchos dientes imposibilita, en la mayor parte de los casos, su completa

conformación, es necesario el uso de desinfectantes que garanticen la limpieza allá donde no llegue la instrumentación y de acondicionadores que preparen la superficie para ser posteriormente obturada. Es indiscutible la necesidad de estos productos en el manejo de nuestros tratamientos de conductos, ahora bien, cómo influyen en la posterior adhesión del material restaurador es un aspecto mayoritariamente desconocido, evidenciando mucha controversia (Abuhaimed y Neel, 2017).

Se han propuesto muchos tipos de irrigantes para la erradicar las bacterias y eliminar el tejido necrótico del sistema de conductos. El desinfectante mayormente utilizado para irrigar en el tratamiento de conductos es el hipoclorito de sodio (NaOCl) en diferentes concentraciones (Siquiera y cols., 1997). El NaOCl tiene una potente acción antibacteriana, es capaz de disolver los remanentes pulpares, así como los elementos orgánicos de la dentina. Entre las acciones del NaOCl también está descrita la capacidad para neutralizar parcialmente los tejidos necróticos o cualquier otro componente antigénico o microbiano residual y eliminar cualquier remanente pulpar o de predentina que no hayan sido eliminados en la instrumentación (Abuhaimed y Neel, 2017). El NaOCl ocasiona una alteración biosintética en el metabolismo celular, una destrucción fosfolipídica, la formación de cloraminas que interfieren en el metabolismo celular y una acción oxidativa con una inactivación enzimática irreversible en bacterias, así como una degradación ácida en moléculas lipídicas

(Guida, 2006). Su capacidad de desbridamiento y disolución puede verse aumentada al incrementar su temperatura o concentración. Contrariamente, no tiene ningún efecto sobre la parte inorgánica de la estructura dentaria (Abuhaimed y Neel, 2017).

Sin embargo, pese a sus deseados efectos sobre las bacterias, Guida (2006) expuso que el NaOCl es capaz también de eliminar las fibras de colágeno y alterar la formación de la capa híbrida necesaria para la correcta adhesión en dentina. Los productos utilizados durante el proceso de desinfección pueden, por tanto, afectar también el proceso de adhesión en dentina de la posterior restauración. Como hemos mencionado anteriormente, el hipoclorito es capaz de disolver la parte orgánica de la dentina, entre la que se encuentra el colágeno, elemento indispensable para formar la capa híbrida (Nikaido y cols., 1999). Los radicales residuales de la degradación de la dentina compiten con los radicales libres de vinilo, producto de la activación por luz de las resinas, dejando el final de la cadena incompleto y la polimerización inacabada (Nikaido y cols., 1999; Morris y cols., 2001; Celik y cols., 2010). Esto significaría que el NaOCl tiene una capacidad de oxidación, comprometiendo, por tanto, la fuerza de adhesión del sistema adhesivo. El NaOCl se descompone en cloruro de sodio y en oxígeno. Esta capa rica en oxígeno se convierte en un fuerte inhibidor entre los adhesivos y la dentina. Las burbujas residuales inhibirían la entrada de las resinas en

los túbulos dentinarios (Nikaido y cols., 1999; Morris y cols., 2001; Khouroushi y cols., 2019).

El NaOCl se utiliza en combinación con otros desinfectantes como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), el ácido cítrico, la clorhexidina (CHX), o por sí solo, representando el irrigante desinfectante más utilizado en Endodoncia (Josic y cols., 2022). De cualquier modo, estos irrigantes utilizados durante el tratamiento de conductos para desbridar, lubricar, erradicar microorganismos y descomponer tejidos, acaban alterando las características químicas y mecánicas de la dentina; lo cual, acabará afectando sus interacciones con el material restaurador utilizado para el sellado coronal (Saber y El-Askary, 2009).

1.2.1 Estudios en los que se concluye que el hipoclorito de sodio en dentina deteriora la adhesión

Encontramos muchos artículos en los que se concluye, que el efecto del hipoclorito sobre la dentina disminuye la fuerza de adhesión. Estos artículos (Nikaido y cols., 1999; Frankenberger y cols., 2000; Perdigão y cols., 2000; Ishizuka y cols., 2001; Morris y cols., 2001; Uceda-Gomez y cols., 2003; Erdemir y cols., 2004; Pimenta y cols., 2004; Soeno y cols., 2004; Vongphan y cols., 2005; Uceda-Gomez y cols., 2007; Saboia y cols., 2008; Stevens, 2014; Gascón y cols., 2023) coinciden en sus conclusiones en que la

aplicación del hipoclorito disminuye la adhesión en dentina en algunos de sus grupos de estudio respecto al grupo control, pero los resultados son muy variantes según el tipo de sistema adhesivo utilizado.

En el artículo de Stevens (2014), se utiliza NaOCl al 6% durante 20 minutos, concluyendo que afecta negativamente sobre la fuerza de unión de algunos adhesivos (autograbantes y autoadhesivos: Speed CEM y Clearfil SA Cement), pero no en los de grabado total (Variolink II) ni en los que tienen los agentes adhesivos separados (Multilink y Clearfil Esthetic Cement EX). Coincide con los resultados de Ishizuka y cols., (2001) que observaron que la fuerza de unión del adhesivo autograbante (Clearfil Mega Bond) se redujo significativamente al aplicar un NaOCl al 6% en dentina (con tiempos de exposición de 1, 5 o 10 min), mientras que el sistema de grabado total (Single Bond) no cambió.

En el estudio de Frankenberger y cols., (2000) se observó que la fuerza de unión se vio mermada tanto en el grupo de los adhesivos autograbantes (Prime & Bond 2.1 y Syntac Sprint) como en el grupo de los de grabado total (Scotchbond Multi-Purpose Plus, EBS y Solid Bond). En el de Nikaido y cols. (1999) la reducción fue observada solo en el grupo de grabado total (Single Bond II) y no en el grupo del sistema autograbante con *primer* (Clearfil Mega Bond) cuando fue expuesto a NaOCl al 5% durante 60 segundos. Vongphan y cols., (2005).

Perdigão y cols. (2000), también observaron que la fuerza de unión, cuando aplicaba dos sistemas de grabado total (Prime & Bond NT y Single Bond), se reducía considerablemente al aplicar NaOCl al 10%. Y Morris y cols. (2001) y Soeno y cols. (2004), observaron, a su vez, que la fuerza de unión a los cementos de resina se redujo considerablemente cuando trataban la dentina con NaOCl al 5% durante 15-20 min y al 10% 30 segundos, respectivamente.

En estos estudios, la aplicación del hipoclorito es previa al grabado ácido (simulando lo realizado cuando tenemos un tratamiento de conductos previo), salvo en tres de los casos (Perdigão y cols., 2000; Frankenberger y cols., 2000; Soeno y cols., 2004) en el que tratamiento con hipoclorito se utiliza tras el acondicionamiento ácido, lo cual disminuye la adhesión en todos los grupos de estudio.

El efecto del hipoclorito en la disminución de la fuerza de unión se explicaría por la eliminación de la matriz orgánica de la dentina. Dejaría así una estructura primaria de colágeno desorganizada que impediría una capa híbrida consistente (Nikaido y cols., 1999). Tras la fragmentación de las cadenas largas de colágeno, se encargaría de incorporar moléculas de cloro en grupos proteínicos terminales, reduciéndolos a unidades más pequeñas (Stoward, 1975). Éstas actuarían de radicales libres, que favorecerían la terminación prematura de la cadena y, en consecuencia, una polimerización incompleta de los adhesivos dentinarios. Esto quiere decir, que el

hipoclorito actuaría como un agente oxidante interfiriendo, en concordancia, en la polimerización de los sistemas adhesivos y cementos basados en resina (Saber y El-Askary, 2009). También influye en el deterioro de esta unión la persistencia de residuos tras la aplicación de los irrigantes que impedirían una correcta penetración/difusión de los adhesivos en los túbulos dentinarios. Es decir, se trataría de una alteración no solo química, sino también mecánica en la unión de las resinas de esta dentina pretratada. Esto explicaría que los adhesivos autograbantes (que basan su unión a dentina con esta conocida “capa híbrida”) se vieran más perjudicados por el NaOCl que los adhesivos autograbantes en estos estudios.

Para estudiar en profundidad este aspecto, decidimos realizar una revisión sistemática (Gascón y cols., 2023: Anexo 3) en la que analizamos cómo influye el tratamiento con antioxidantes en dentina previamente tratada con irrigantes en la fuerza de unión posterior. En la revisión, se estudió el efecto del hipoclorito en dentina y concluimos que el efecto negativo de la desproteínización del hipoclorito es adhesivo-dependiente y afecta, mayoritariamente, a los adhesivos autograbantes.

Todos estos estudios utilizan diferentes tipos de adhesivos (autograbantes, autoadhesivos, de grabado total y en diferentes pasos) y el hipoclorito se presenta en diferentes formas (gel o líquido), concentraciones y tiempo con lo que es difícil saber

cuál es la variable que influye en la fuerza de adhesión de las resinas a la dentina tratada.

Se han revisado muchos artículos en los que se prueba cómo afecta el hipoclorito a la posterior adhesión del material restaurador, pero hay muchos artículos (Weston y cols., 2007; Celik y cols., 2010; Furuse y cols., 2014; Khoroushi y Kachuei, 2014; Wang y cols., 2019), que se revisarán con detalle posteriormente, en los que se da por hecho el efecto desfavorable del hipoclorito sobre dentina y en los que el objetivo de su estudio es mejorar esta adhesión. En estos artículos, se analiza el efecto del hipoclorito por sí solo, en diferentes concentraciones y tiempos. Celik y cols. (2010) y Furuse y cols. (2014) utilizan NaOCl al 5,25% durante 10 min; Wang y cols. (2019) y Weston y cols. (2007) la misma concentración durante 20 min. Morris y cols., (2001) usan NaOCl al 5% durante 15-20 min. Khoroushi y Kachuei (2014) bajaron la concentración en sus estudios a NaOCl al 2,5% durante 1 minuto y Stevens (2014) la subió al 6% durante 20 min.

Otros estudios combinan la aplicación de NaOCl con otros tipos de irrigantes sobre dentina para comprobar cómo es la adhesión tras el efecto de estos agentes. Bansal y Tewari (2008) compararon el efecto sobre la adhesión del hipoclorito junto con clorhexidina y la povidona iodada (NaOCl al 5,25% durante 1 minuto; CHX al 0,2%

durante el mismo tiempo; y povidona iodada al 5%), concluyendo que todos deterioran la unión de dentina a diferentes adhesivos (Prime & Bond NT y Xeno II).

Dikmen y Tarim (2018) también compararon el efecto del NaOCl, por sí solo y junto al EDTA, con la CHX. Para los grupos en los que se usó el NaOCl (al 5,25% NaOCl durante 30 s) o junto con el EDTA (al 17% durante 1 minuto) la microfiltración en los grupos de estudio era evidente en todos los adhesivos estudiados; mientras que al compararlo con la CHX (al 2% durante 5 min), se observó que ésta solo deterioraba la unión en los grupos en los que se aplicó un adhesivo de grabado total (Single Bond) y no en los autograbantes (Clearfil SE Bond y Xeno 3) estudiados.

Nassar y cols. (2011) compararon la aplicación del NaOCl junto con la combinación del NaOCl con CHX (10 ml de NaOCl al 5,25% durante 10 minutos; o 10 ml de NaOCl al 5,25% durante el mismo tiempo y 5 ml de CHX al 2%) concluyendo que influyen negativamente sobre la unión del Epiphany SE a las paredes del conducto.

Shrestha y cols. (2013) compararon el efecto del NaOCl junto con MTAD y EDTA (combinando diferentes grupos de estudio: NaOCl al 1,3%; NaOCl al 5,2%; MTAD; EDTA al 17%; o la combinación de NaOCl al 1,3% + EDTA al 17%; o NaOCl al 5,2% + MTAD) concluyendo que cualquier opción del NaOCl (solo o combinado) influye negativamente sobre la unión entre la dentina y el RealSeal SE.

1.2.2 Estudios en los que se concluye que el hipoclorito de sodio en dentina mejora la adhesión

En contraposición, existen algunos artículos en los que se concluye que el hipoclorito puede ayudar a mejorar la adhesión (Wakabayashi y cols., 1994; Vargas y cols., 1997; Prati y cols., 1999; Pioch y cols., 2001; Pucci y cols., 2016). Todos estos artículos coinciden en que la aplicación del hipoclorito tras el grabado ácido sería, para eliminar la matriz de colágeno expuesta tras el grabado ácido y mejoraría la capa híbrida y, por tanto, la adhesión en dentina (Perdigão y cols., 2000). Estos trabajos defienden que, al eliminar los componentes orgánicos de la dentina, se consigue una capa de dentina más mineralizada que consigue una unión más íntima con el sistema adhesivo, sin la existencia de la llamada capa híbrida. Al eliminar el colágeno expuesto tras el grabado ácido, se producirían unos microporos en la capa mineralizada donde penetraría la resina del sistema adhesivo creando así una matriz mineralizada de resina infiltrada.

Existe pues, revisando la bibliografía, mucha variabilidad entre los artículos consultados al revisar cómo afecta el hipoclorito en la adhesión. Estos datos contradictorios podrían deberse a múltiples factores como: la variabilidad en la metodología de los estudios, la concentración del NaOCl, el momento en el que se aplica, el tiempo de aplicación de éste o la forma de presentación (gel o líquido).

Según Abuhaimed y Neel (2017), esta variabilidad en los resultados se debe a la capacidad de los sistemas adhesivos de eliminar los productos de degradación derivados del grabado ácido, así como del NaOCl que interferirían en la cadena de polimerización de los radicales libres de los cementos de resina. Según estos estudios, los adhesivos de grabado total tienen mayor capacidad para eliminar la dentina degenerada y los productos residuales del NaOCl que los adhesivos autograbantes.

Según Nima y cols., (2020), esto podría deberse a la diferente composición de los sistemas adhesivos que incluyen variadas matrices monoméricas de resina y diferentes tipos de solventes orgánicos. Y, respecto a los vehículos solventes hallados en la composición de estos adhesivos, los estudios demuestran que los basados en acetona dan mejores resultados que los basados en etanol (Barbosa de Souza y cols., 2005; Dayem, 2010; Ravishanker y Chaintanya, 2012).

Los mismos artículos que postulan la merma en la adhesión tras la aplicación del NaOCl, proponen la aplicación de antioxidantes naturales para contrarrestar la acción negativa de del NaOCl sobre la adhesión en dentina. Estos antioxidantes mejorarían la fuerza de unión en la dentina tratada con NaOCl, estabilizarían la interfase dentina-resina gracias a su capacidad antioxidante y eliminarían los remanentes residuales del NaOCl (Morris y cols., 2001; Weston y cols., 2007; Prasansuttiorn y cols., 2011; Manimaran y cols., 2011; Berger y cols., 2013).

1.3 Cómo mejorar la unión de los tejidos mineralizados del diente tras el blanqueamiento y la exposición al hipoclorito; uso de Agentes Antioxidantes

Consecuentemente, se han sugerido diferentes propuestas para resolver parte de los problemas generados por el blanqueamiento y, en concreto, para aumentar la adhesión de las resinas del composite a la estructura dentaria. Entre ellas, se consideran factores como aplicar un agente antioxidante o esperar cierto tiempo para que los óxidos del blanqueamiento sean liberados de la estructura dentaria de forma natural y no influyan en su adhesión. Este efecto adverso está considerado que desaparece entre 24 horas y 3 semanas tras el blanqueamiento (Minoux y Serfaty, 2008) y está aconsejada la espera de un mínimo de 7 días para completar una terapia adhesiva (Da Silva y cols., 2007). Esto puede ser considerado un gran inconveniente a la hora de restaurar ya que el/la paciente puede no disponer de este tiempo adicional o se pueden perder pacientes en el transcurso de este tiempo, fracasando por tanto nuestro tratamiento estético conservador. Por ello, se ha sugerido la utilización de agentes antioxidantes para revertir el efecto del agente blanqueante y mejorar la adhesión (Gascón y cols., 2023). El antioxidante más comúnmente utilizado es el ácido ascórbico (AA) pero existen otras muchas más referencias bibliográficas de otros agentes antioxidantes para este propósito.

De entre los diferentes artículos consultados ([Tabla 1.3-1](#)) encontramos que estudian el AA exclusivamente y en diferentes concentraciones (5%, 10%, 20%, 35%). El AA o vitamina C ($C_2H_8O_6$) es un cristal incoloro, inodoro, sólido, soluble en agua, con un sabor ácido. En humanos, la vitamina C no se sintetiza, por lo que debe ingerirse a través de los alimentos. Son conocidas sus propiedades antioxidantes e interviene en la cicatrización de heridas, la curación de tejidos dañados y la reacción inmunitaria ante infecciones.

También se comparan los efectos del AA con de otros antioxidantes como: proantocianidina (PAC; presente en arándanos, semillas y la piel de la uva; al 5%, 6%, 6,5%), té verde (TV al 10%), α -tocoferol (vitamina E), presente en el extracto de semilla de guayaba; al 10%), aloe vera; extracto de piel de granada (al 5%), licopeno (LP; compuesto químico de origen carotenoide que se utiliza como pigmento alimentario); extracto de piel de tronco de pino (al 5%), galato de epigallocatequina (compuesto vegetal considerado como un potente antioxidante, también conocido como catequina); superóxido dismutasa (SOD; catalizante de la dismutación de superóxido en PH y oxígeno), salvia; extracto de patata dulce; té blanco (TB; al 5 %, 10%); extracto de cáscara de mangostán (MP; al 10%, 20% y 40%); extracto de romero; extracto de pedicularis; metabisulfito de sodio (SMB; al 25%, 12,5% y al 5%); Amla (Amalaki o grosellero de la India, con gran contenido en Vitamina C); quercetina (flavonol

presente en muchas frutas y verduras, en especial en las cebollas; al 0,1%, 0,5%, 1%); retinol al 10%; e hidróxido de calcio (CaOH, que no es en realidad un agente antioxidante).

Agente antioxidante	Autores
Ácido ascórbico	Anil y cols., 2015; Briso y cols., 2014; Boruziniat y cols., 2018; Dabas y Patil, 2011
Proantocianidina	Arumugam y cols., 2014; Khamverdi y cols., 2016; Sharafeddin y Farshad, 2015; Mukka y cols., 2016; Subramonian y cols., 2015; Manoharan y cols., 2016; Abraham y cols., 2013; Nair y cols., 2019; Gogia y cols., 2018
Té verde	De Carvalho y cols., 2016; Berger y cols. 2013; Ozelin y cols., 2014; Rana y cols., 2019; Sharafeddin y Farshad, 2015
α-tocoferol	Gogia y cols., 2018
Aloe vera	Sharafeddin y Farshad, 2015; Nair y cols., 2019; Kadiyala y cols., 2015)
Extracto de piel de granada	Sharafeddin y Farshad, 2015; Mukka y cols., 2016
Galato de epigallocatequina	Khamverdi y cols., 2016; Khamverdi y cols., 2013
Licopeno	Arumugam y cols., 2014
Extracto de piel de tronco de pino	Mukka y cols., 2016; Subramonian y cols., 2015
Extracto de patata dulce	Nair y cols., 2019
Té blanco	Rana y cols. 2019
Extracto de romero	Suneetha y cols., 2014
Extracto de cáscara de mangostán	Alhasyimi y cols., 2018:
Quercetina	Shamsedin y cols., 2017
Superóxido dismutasa	Kavitha y cols., 2016
Metabisulfito de sodio	Vieira y cols., 2018:
Extracto de pedicularis	Suneetha y cols., 2014
Salvia	Khamverdi y cols., 2016

Amla	Keni y cols., 2018
Retinol	Yadav y cols., 2015
Hidróxido de calcio	Feiz y cols., 2011

Tabla 1.3-1. Agentes antioxidantes aplicados en dentina para mejorar su adhesión

El agente antioxidante mayormente estudiado es el ácido ascórbico. Se pueden hacer dos subgrupos a su vez, teniendo en cuenta si el estudio contempla solamente el efecto del ácido ascórbico (AA) en diferentes concentraciones y tiempos o si comparan el AA con otro tipo de antioxidante.

1.3.1 Estudios sobre el ácido ascórbico

Comparan la aplicación del AA a esperar un tiempo tras el blanqueamiento con resultados positivos: Uysal y cols. (2010), Khoroushi y cols. (2010), Danesh-Sani y Esmaili (2011), Mazaheri y cols. (2011), Khoroushi y cols. (2012), Khosravanifard y cols. (2012), Kunjappan y cols. (2013), Miranda y cols. (2013), Güler y cols. (2013), Abed y cols. (2014), Briso y cols. (2014), Abed Kahnemooyi y cols. (2014), Yoon y cols. (2014), Anil y cols. (2015), Omrani y cols. (2016), Trindade y cols. (2016), Jung y cols. (2017), Boruziniat y cols. (2018), Alrafaa y cols. (2019), Aristizábal y cols. (2020) y Ghaleb y cols. (2020). Estos autores aplican el ácido ascórbico entre un 10% y un 35% con tiempos de aplicación que rondan los 10-15 min (aunque Khoroushi y cols. (2010 y 2012), como excepción, lo emplean durante 6 horas y Jung y cols. (2017) durante 48 horas y concluyen que su efecto iguala al de esperar al menos 7 días tras el blanqueamiento

para iniciar la restauración. Solo en un estudio, el de Yoon y cols. (2014), se aplica el ácido ascórbico durante 30 segundos y 1 y 2 min y se obtienen resultados satisfactorios en cuanto a conversión de la adhesión tras el blanqueamiento; y, en el de Hansen y cols. (2014) reducen este tiempo de espera a 1 y 5 min pero sus resultados no son satisfactorios, concluyendo que esperar 7 días mejora los resultados de adhesión.

En contraposición, otros autores como Kimyai y cols. (2010), Dabas y Patil (2011), Hansen y cols. (2014), Alencar y cols. (2016), Kılınç y cols. (2016) y Türkmen y cols. (2016) obtienen lo contrario en los resultados de sus estudios, concluyendo que la aplicación de un antioxidante no mejora la adhesión. Estos autores también utilizan el ácido ascórbico como agente antioxidante en concentraciones que oscilan entre el 10% y 35% durante tiempos variables desde 1 minuto hasta 3 horas.

En la tabla que sigue ([Tabla 1.3-2](#)) se recogen todos los artículos recopilados y aparecen como resultado positivo los estudios que estipulan que el agente antioxidante revertió los efectos del blanqueamiento sobre la adhesión y como resultados negativos cuando consideraron que el agente antioxidante no fue suficiente para revertir los efectos y consideran que es mejor esperar una semana tras el blanqueamiento.

Autores	Concentración de ácido ascórbico y tiempo	Resultado Positivo	Resultado Negativo
1. Abed y cols., 2014	AA 10%- 10min	+	
2. Alencar y cols., 2016	AA 10%- 15min		+
3. Anil y cols., 2015	AA 10%- 10min	+	
4. Alrafaa y cols., 2019	SA 10% 10 min	+	
5. Aristizábal y cols., 2020	AA 10% 15 min	+	
6. Boruziniat y cols., 2018	AA 10%- 10min	+	
7. Briso y cols., 2014	AA 10%- 10min	+	
8. Dabas y Patil, 2011	AA 10-20%- 30-60-120min	+	
9. Danesh-Sani y Esmaili, 2011	AA 10%- 10min	+	
10. Ghaleb y cols., 2020	AA al 10% -10 min	+	
11. Güler y cols., 2013	AA 10%- 10min	+	
12. Hansen y cols., 2014	AA 35%- 1-5min		+
13. Jung y cols., 2017	AA 10%- 5min-48h	+	
14. Abed Kahnemooyi y cols., 2014	AA 10%- 10min	+	
15. Khoroushi y cols., 2010	AA 10%- 6h	+	
16. Khoroushi y cols., 2012	AA 10%- 6h	+	
17. Khosravanifard y cols., 2012	AA 10%- 10min	+	
18. Kılınç y cols., 2016	AA 10%- 10min		+
19. Kimyai y cols., 2010	AA 10%- 10min-3h		+
20. Kunjappan y cols., 2013	AA 10%- 10min	+	
21. Mazaheri y cols., 2011	AA 10%- 10h	+	
22. Miranda y cols., 2013	AA 10%- 60min	+	
23. Omrani y cols., 2016	AA 10%- 20min	+	
25. Trindade y cols, 2016	AA 10-35%- 1min	+	
26. Türkmen y cols., 2016	AA 10%- 5min		+
27. Uysal y cols., 2010	AA 10%- 10min	+	
28. Yoon y cols., 2014	AA 10%- 30s,1-2min	+	

Tabla 1.3-2. Estudios en los que se aplica exclusivamente ácido ascórbico

A continuación (Tabla 1.3-3), se muestra un resumen de los artículos en los que, tras la aplicación de ácido ascórbico, se mejora la adhesión de las resinas compuestas para por su posterior restauración.

Concentración del ácido ascórbico	Tiempo	Autores
10%	10 min	Abed y cols., 2014; Anil y cols., 2015; Alfaraa y cols., 2019; Boruziniat y cols., 2018; Briso y cols., 2014; Danesh-Sani y Esmaili, 2011; Ghaleb y cols., 2020; Güler y cols., 2013; Abed Kahnemooyi y cols., 2014; Khosravanifard y cols., 2012; Kunjappan y cols., 2013; Uysal y cols., 2010
10%	15 min	Aristizábal y cols., 2020
10%	20 min	Omrani y cols., 2016
10%	1 min	Trindade y cols., 2016; Yoon y cols., 2014
10%	5 min	Jung y cols., 2017;
10%	1 hora	Miranda y cols., 2013
10%	6 h	Khoroushi y cols., 2010; Khoroushi y cols., 2012
10%	10 h	Mazaheri y cols., 2011
10%-20%	30- 60- 120 min	Dabas y Patil, 2011
35%	1 min	Trindade y cols., 2016

Tabla 1.3-3. Estudios en los que la aplicación del ácido ascórbico mejora la adhesión, tiempo y concentración

La concentración más usada de AA es del 10%. Es la que utilizan en la mayoría de los estudios, a excepción del estudio de Trindade y cols. (2016) en la que utiliza ácido ascórbico al 35% y la de Dabas y Patil (2011) en la que dobla su concentración a 20%, pero en el que observan que esto no mejora el efecto del antioxidante. Los tiempos de

aplicación de este antioxidante oscilan entre el minuto hasta las 10 horas, siendo cierto que la mayoría de los autores lo aplican durante 10 min.

En la siguiente tabla (Tabla 1.3-4) se indican todos los artículos donde han estudiado el efecto del ácido ascórbico sobre el diente y en los que se concluye que su efecto no mejora las propiedades de adhesión posterior tras el tiempo establecido. Son muchos menos los que desaconsejan el uso de un antioxidante para revertir los efectos nocivos del agente blanqueante sobre la adhesión, de forma rápida, tras este tratamiento.

Concentración del ácido ascórbico	Tiempo	Autores
10%	10 min	Kılınç y cols., 2016; Kimyai y cols., 2010
10%	15 min	Alencar y cols., 2016
10%	5 min	Türkmen y cols., 2016
10%	1-5 min	Hansen y cols., 2014

Tabla 1.3-4. Estudios en los que la aplicación del ácido ascórbico no mejora la adhesión, tiempo y concentración

1.3.2 Estudios comparativos entre el ácido ascórbico y otros antioxidantes

A continuación (Tabla 1.3-5), se recopilan los estudios en los que se utiliza, a parte del ácido ascórbico (AA), otro tipo de antioxidante.

Todos los estudios analizados, obtuvieron resultados positivos al aplicar un agente antioxidante tras el blanqueamiento, es decir, los autores consideraron que, al aplicar

un agente antioxidante durante cierto tiempo, se mejoran las condiciones de adhesión del diente blanqueado. El tiempo de aplicación entre unos estudios y otros sí que varió.

	Estudio	Tipo de antioxidante	Agente blanqueante	Tiempo de aplicación	Resultado
1	Abraham y cols., 2013:	AA 10% y 5% PAC	PH 38%	10min	PAC al 5% $\geq$ AA al 10%
2	Alhasyimi y cols., 2018:	AA 10% y MP 10%; MP 20%; MP 40%	PH 40%	10min	MP 40% $\geq$ MP 20% = MP 10% = AA 10%
3	Arumugam y cols 2014:	AA 10%; PAC 6.5% y LP 5%	PC 35%	10min	AA al 10% $\geq$ PAC = LP
4	Berger y cols., 2013:	AA 10% y TV 10%	PC 10%	1h	AA 10%= TV 10%
5	De Carvalho y cols., 2016:	AA 10% y TV 10%-20%-30%	PC 10%	1h	AA 10%= TV 10% $\geq$ TV 20% = TV 30%
6	Eggula y cols., 2020	AA 10% y PAC 6%	PH 40%	10min	AA al 10% $\geq$ PAC 6%
7	Feiz y cols., 2011	AA 10% y CaOH	PH 35%	40h	AA 10% $\geq$ CaOH
8	Gogia y cols., 2018	AA 10%; α -tocoferol 10% y PAC 10%	PH 37,5%	10min y 2h	α -tocoferol 10% $\geq$ resto de grupos
9	Kadiyala y cols., 2015	AA 10% y aloe vera	PC 35%	10min	Aloe vera= AA 10% = esperar una semana
10	Kavitha y cols., 2018	AA 10%; SOD y α -tocoferol 10 %	PC 35%	10min	AA 10% = SOD = esperar una semana $\geq$ α -tocoferol 10%
11	Keni y cols., 2018	AA 10% y AMLA	PC 16%	3h	AA al 10% $\geq$ AMLA
12	Manoharan y cols., 2016	AA 10% y PAC 5%	PC 15%	10min	AA 10% = PAC 5% = grupo sin blanquear $\geq$ grupo blanqueado
13	Mukka y cols., 2016	PAC 5%; extracto de tronco de pino al 5%; extracto de granada al 5%	PH 40%	10min	Extracto de tronco de pino al 5% = PAC al 5% = extracto de pomelo al 5% $\geq$ grupo blanqueado
14	Nair y cols., 2019	AA 10%, PAC 6.5%, aloe vera 50%	PC 35%	10min	PAC 6.5% $\geq$ AA 10% = aloe vera 50% $\geq$ esperar 2 semanas

15	Ozelin y cols., 2014	AA al 10% y TV 10%	PC 10%	15min y 1h	AA al 10% 15 min = TV10% 1h
16	Rana y cols., 2019	AA 10%; TV 5%; TB al 5%	PH 38%	10min	AA 10% ≥ TV 5% = té blanco 5% ≥ no aplicar antioxidante
17	Shahi y cols., 2020	α-tocoferol 10%, 20% y 30%	PH 37,5%	5min y 2h	α-tocoferol 30% ≥ 20% ≥ 10% 5 min
18	Shamsedin y cols., 2017	AA 10%, Quercetina (0,1%, 0,5%, 1%)	PC 15%	5min y 10 min	Quercetina 0,1% 5 min, 0,5% = 1% ≥ AA 10% 10 min= Quercetina 0,1%, 10 min ≥ esperar una semana
19	Subramonian y cols., 2015	AA al 10%, PAC 10%, extracto de tronco de pino 10%	PH 37,5%	10min	Extracto de tronco de pino 5% ≥ AA 10% = PAC 5%
20	Suneetha y cols., 2014	AA al 10%, extracto de romero, extracto de pedicularis	PC 10%	10min	AA 10% = extracto de romero ≥ extracto de pedicularis
21	Thapa y cols., 2013	AA 10%; AA 25% y 10%, α-tocoferol 25%	PC 10%	10min	AA 10% = AA 25 % = α-tocoferol 25% ≥ la α-tocoferol 10%
22	Vieira y cols., 2018:	SMB 25%, 12,5%, 5%	PH 35%	10min y 1h	SMB 25 % ≥ SMB 12,5% ≥ SMB al 5%
23	Whang y Shin, 2015	AA 10% y α-tocoferol 10%	PC 15%	1min	AA 10% ≥ esperar 4 semanas ≥ α-tocoferol 10 %
24	Yadav y cols., 2015	AA 10%, α-tocoferol al 10%, retinol 10%	PH 35%	10min	AA al 10% = α - tocoferol ≥ retinol al 10%
25	Zhang y cols., 2020	AA 10%, PAC al 5%	PH 35%	1 y 2 h	AA 10% ≥ PAC 5%

Tabla 1.3-5. Estudios en los que se compara el ácido ascórbico con otro tipo de antioxidante

Como se puede observar, los grupos son muy heterogéneos entre sí y es difícil su comparación y establecer conclusiones al respecto.

El tipo de agente blanqueante es muy dispar: desde PH en altas concentraciones a PC en bajas concentraciones, pudiendo esto influir claramente en la fuerza de adhesión final y en el efecto que el agente antioxidante pueda ejercer sobre éste.

Los tiempos de aplicación de los agentes antioxidantes también varían (desde 1 minuto hasta 40 horas) aunque es cierto que se podrían considerar los 10 min como el valor que más se repite, ya que se trata de un tiempo clínico asequible y que en la mayor parte de los casos ofrece resultados satisfactorios.

El tipo de agente antioxidante también varía mucho en los diferentes trabajos de investigación y son pocos los que no se comparan con el ácido ascórbico (Mukka y cols., 2016; Vieira y cols., 2018 y Shahi y cols., 2020). En general, los resultados ponen en valor el efecto del ácido ascórbico respecto al resto de antioxidantes ya que es el que mejor revierte los efectos indeseables sobre la adhesión de los agentes blanqueantes excepto en artículos en los que concluyen que el otro agente antioxidante es superior al AA al 10% (extracto de tronco de pino al 5%, según Subramonian y cols., 2015; proantocianidina al 5%, en el caso de Abraham y cols., 2013; extracto de piel de mangostán al 40%, según Alhasyimi y cols., 2018; proantocianidina al 6.5% según Nair y cols., 2019; y extracto de tronco de pino al 5%, según Shamsedin y cols., 2017).

La concentración de los agentes antioxidantes también varía mucho y pueden influir en el resultado final de los estudios.

1.3.3 Agentes antioxidantes y procesos adhesivos sobre la dentina

Otro tema importante para tener en cuenta es el sustrato donde se realiza la adhesión. En la mayoría de los estudios consultados se ha experimentado sobre la superficie de esmalte del diente. Como conocemos, la adhesión en esmalte es más efectiva que sobre dentina pero el interés de la presente investigación es conocer como los efectos de las sustancias utilizadas en el tratamiento de conductos sumados a los del blanqueamiento influyen sobre la adhesión final, por lo que este estudio se focalizará en encontrar los estudios que se centran en comprobar cómo eran la adhesión en dentina, puesto que, en la cámara pulpar es donde se concentran las sustancias utilizadas en los tratamientos de conductos y aquí es donde se aplican también los productos del blanqueamiento.

De los 53 estudios consultados en los que se estudiaba la influencia de los productos del blanqueamiento sobre la adhesión y la influencia de un antioxidante, solo 11 se realizaron sobre dentina. En la tabla siguiente ([Tabla 1.3-6](#)) se contemplan los 11 estudios que estudian en dentina el efecto del blanqueamiento y los posibles efectos sobre la adhesión.

	Autores	Tipo de agente antioxidante	Dentina cameral
1	Boruziniat y cols., 2018	AA 10%- 10min	No
2	Briso y cols., 2014	AA 10%- 10min	No
3	Feiz y cols., 2011	AA 10% e CaOH- 40 h	No
4	Hansen y cols., 2014	SA 35%- 1-5min	No
5	Jung y cols., 2017	SA 10%- 5min-48h	No
6	Khoroushi y cols., 2010 y 2012	SA 10%- 6h	No
7	Omrani y cols., 2016	SA 10%- 20min	No
8	Trindade y cols., 2016	SA 10-35%- 1min	No
9	Vieira y cols., 2018	sodio metabisulfito (SMB) al 25%, 12,5% y al 5%, 1h y 10 min	No
10	Whang y Shin., 2015	SA 10% (vitamina C) y 10% α -tocoferol (vitamina E)- 60s	Sí
11	Yoon y cols., 2014	SA 10%- 30s,1-2min	No

Tabla 1.3-6. Estudios en los que se mide la influencia del antioxidante sobre dentina

Y de estos 11 artículos, solo en uno (Whang y Shin, 2015) se simula un tratamiento de conductos, es decir, se aplica un agente blanqueante, así como un agente antioxidante, en el interior de la cámara pulpar (dentina cameral), pero sin aplicación de un agente irrigante endodóntico. De ahí, el interés por profundizar en esta parcela de conocimiento. Por tanto, y ante la falta de información al respecto se propone realizar un estudio en el que se intente aportar más información acerca de cómo afectan los agentes irrigantes en Endodoncia y los agentes blanqueantes en la dentina cameral.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Comprobar si el efecto sinérgico de los agentes irrigantes utilizados en Endodoncia (NaOCl al 6% y EDTA al 17%) junto con el del agente blanqueante (PH al 35%) disminuye la capacidad de adhesión de un adhesivo autograbante a la dentina y, en su caso, si un agente antioxidante influye en ello.

2.2 Objetivos específicos

Establecer el efecto sobre la capacidad de adhesión de dos agentes antioxidantes (ácido ascórbico y resveratrol).

Determinar si el tiempo de aplicación (5 o 10 min) de los agentes antioxidantes (ácido ascórbico al 10% y resveratrol) influyen en la modificación de la capacidad de adhesión.

Observar la interfase adhesiva entre un adhesivo autograbante y la dentina tratada previamente con hipoclorito, EDTA y blanqueada, tras la adición o no de un agente antioxidante, mediante un análisis con microscopía confocal láser.

Comparar las interfases adhesivas de las distintas alternativas terapéuticas entre sí.

METODOLOGÍA

3 METODOLOGÍA

Para tratar de responder adecuadamente a las dudas que se generan en torno a la adhesión y las condiciones que se obtienen en el diente sometido a un tratamiento de conductos y posteriormente blanqueado, se pretende reproducir *in vitro*, en dientes extraídos, estas condiciones. Para ello, se simulará el tratamiento de conductos realizando una apertura cameral, una permeabilización e instrumentación del conducto y aplicando sobre la dentina intracameral los productos que se utilizan para la desinfección y el acondicionamiento del conducto de manera habitual. Con esto, se pretende alterar el sustrato dentinal con los mismos medios mecánicos y químicos que se realizan en la práctica endodóntica para obtener así un sustrato alterado. A continuación, se aplicarán a éste los productos utilizados en las técnicas de blanqueamiento, siguiendo las indicaciones de los fabricantes. Como resultado final, se obtendrá una dentina alterada químicamente por los agentes irrigantes y blanqueantes y, sobre este sustrato, se aplicará el tratamiento adhesivo restaurador para observar la interfase adhesiva. A esta dentina alterada, además, se aplicará, de manera previa a las técnicas de restauración, un agente antioxidante para ver si éste influye y, de qué manera, sobre la adhesión de las resinas a la dentina. Posteriormente, se realizará una obturación con un sistema adhesivo al que se le aplicará rodamina

para poder observar la penetración de éste a través de los túbulos dentinarios y observarla con el microscopio confocal para medir la profundidad de este.

3.1 Aspectos éticos

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación en Humanos de la Universitat de València. Se presenta el informe de aprobación del comité en el anexo 1 y el consentimiento informado utilizado en el anexo 2.

3.2 Diseño experimental

3.2.1 Obtención de la muestra

112 dientes humanos monorradiculares fueron seleccionados, extraídos y mantenidos en timol al 0,2% (Pimentel-Corrêa y cols., 2016; Chauhan y cols., 2017; Cavalli y cols., 2018; Bharti y Chandra, 2021). Fueron lavados y examinados en sus caras vestibular y lingual para posteriormente introducirlos en un recipiente individual estéril con timol al 0,2% ([Imagen 3.2.1-1. Agua timolada al 0,2%](#) e [Imagen 3.2.1-2. Especímenes en su recipiente estéril](#)) a la espera de su uso, como máximo durante 6 meses (Pimentel-Corrêa y cols., 2016).



Imagen 3.2.1-1. Agua timolada al 0,2%



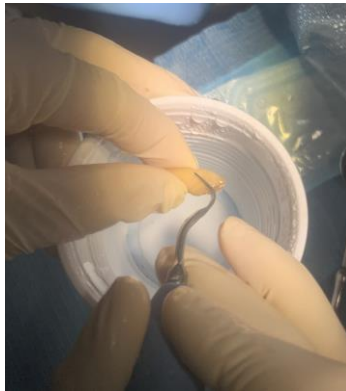
Imagen 3.2.1-2. Especímenes en su recipiente estéril

- Criterios de inclusión: dientes monorradiculares libres de caries o cualquier tratamiento anterior mecánico o químico extraídos por motivos periodontales u ortodónticos.
- Criterios de exclusión: dientes que no fueran monorradiculares; así como dientes fracturados o con procesos cariosos activos o tratados mediante un tratamiento restaurador.

3.2.2 Tamaño muestral

Se obtuvieron 112 dientes distribuidos en 7 grupos: dos grupos control (uno positivo en el que se incluyeron 6 dientes y otro negativo en el que se incluyeron otros 6 dientes) y cinco grupos de estudio que explicaremos a continuación. Los dientes fueron lavados y se le realizó una limpieza con punta de ultrasonidos (nº 1 universal, Satelec,

Acteon, Reino Unido) para eliminar el tejido blando residual y el tártaro adherido a la superficie del diente ([Imagen 3.2.2-1. Limpieza de los especímenes con punta de ultrasonido](#)).



[Imagen 3.2.2-1. Limpieza de los especímenes con punta de ultrasonido](#)

3.2.3 Preparación endodóntica de los especímenes:

Una cavidad de acceso endodóntico con fresa de apertura redonda de diamante de 1,6 mm de parte activa (Proclinic, Barcelona, España) fue utilizada con turbina de alta velocidad ([Imagen 3.2.3-1](#)) y abundante irrigación (Whang y Shin, 2015). A la llegada a la cámara pulpar, la pulpa fue extraída con cucharillas y nebulización de agua y aire ([Imagen 3.2.3-2](#)).

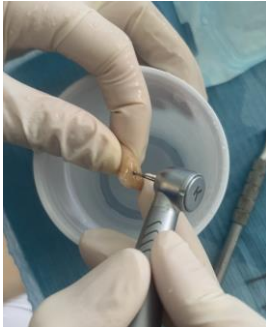


Imagen 3.2.3-1. Apertura de la cámara pulpa con turbina y fresa redonda de turbina



Imagen 3.2.3-2. Imagen de la apertura una vez terminada

El conducto fue permeabilizado con una lima K del número 10 (Dentsply Sirona, Salzburgo, Alemania) (Imagen 3.2.3-3) y, a continuación, se conformó el conducto con un sistema rotatorio de lima única R40 (Reciproc, Dentsply-Sirona, Ballaigues, Suiza) de movimiento alternante (Imagen 3.2.3-4), siguiendo los parámetros aconsejados por el fabricante.



Imagen 3.2.3-3. Lima K manual del número 10



Imagen 3.2.3-4. Lima única R40 Reciproc

Paralelamente a la introducción de la lima de conformación, se realizaron irrigaciones con una jeringa de 5 ml con punta de irrigación de 27G de apertura lateral (Endo-EZE,

Ultradent Products Inc., South Jordan, EE. UU.) (Imagen 3.2.3-5) de NaOCl al 6% (Imagen 3.2.3-6 e Imagen 3.2.3-7) (CanalPro NaOCl 6%, Coltène/Whaledent Inc., Cuyahoga Falls, EE.UU.). Realizando un total 4 irrigaciones de 5 ml, es decir, 20ml de NaOCl al 6% y dejándolo actuar durante 10 min (Morris y cols, 2001; Pamir y cols., 2006; Celik y cols., 2010; Nassar y cols., 2011; Furuse y cols., 2014; Dikmen y Tarim, 2018).



Imagen 3.2.3-5. Punta de irrigación de 27G de apertura lateral



Imagen 3.2.3-6. NaOCl al 6%



Imagen 3.2.3-7. Irrigación con punta con salida lateral e NaOCl al 6%

A continuació, se realitzà un lavado con 3 ml de suero fisiològic para, posteriormente, realizar una irrigación de 5 ml de EDTA al 17% (CanalPro EDTA 17%, Coltène/Whaledent Inc., Cuyahoga Falls, EE. UU.) (Imagen 3.2.3-8), seguida de un lavado final de 3 ml de suero fisiològic (Nagpal y cols., 2013; Pimentel-Corrêa y cols., 2016; Bharti y Chandra, 2021; Iandolo y cols., 2023).



Imagen 3.2.3-8. EDTA al 17%

Este procedimiento de la preparación mecánica y química del sistema de conductos se realizó en todos los dientes excepto en 6. Se eligieron 6 dientes aleatoriamente que pasaron a formar parte del grupo I de estudio, en los que se realizó todo el procedimiento mecánico, pero no el químico, irrigando exclusivamente con suero fisiológico. Estos 6 dientes preparados endodónticamente sin hipoclorito ni EDTA y no blanqueados, pasaron a formar parte del grupo I de estudio, control positivo. Estos especímenes se conservaron en sus respectivos recipientes en timol al 0,2% a la espera de ser obturados.

3.2.4 Técnica de blanqueamiento

Los 106 dientes restantes fueron sometido al tratamiento de blanqueamiento inmediatamente. Este procedimiento consistió en aplicar 35% de PH, Perfect Bleach Office+, Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania (Feiz y cols., 2011; Yadav y cols., 2015; Vieira y cols., 2018; Zhang y cols., 2020) (Imagen 3.2.4-1 e Imagen 3.2.4-2), de pH neutro, y seguir indicaciones específicas del fabricante. Para ello, se confeccionó una base de silicona masilla que sirvió de base para la colocación de los especímenes y poder aplicar sobre estos el agente blanqueante (Imagen 3.2.4-3). El producto de blanqueamiento escogido consta de una base y un activador que se mezclan en su jeringa de automezclado. Así pues, una vez preparado, se introdujo el gel en el interior del diente hasta cubrir su capacidad y se cubrió el diente en su parte coronal, tal como indica el fabricante. Se dejó 15 min actuando. Tras el tiempo determinado, se aspiró cuidadosamente el gel y se repitió el proceso dos veces más, con un total de 3 veces.



Imagen 3.2.4-1. 35% de PH (Perfect Bleach Office+)



Imagen 3.2.4-2. Detalle de la introducción del agente blanqueante en la cámara pulpar

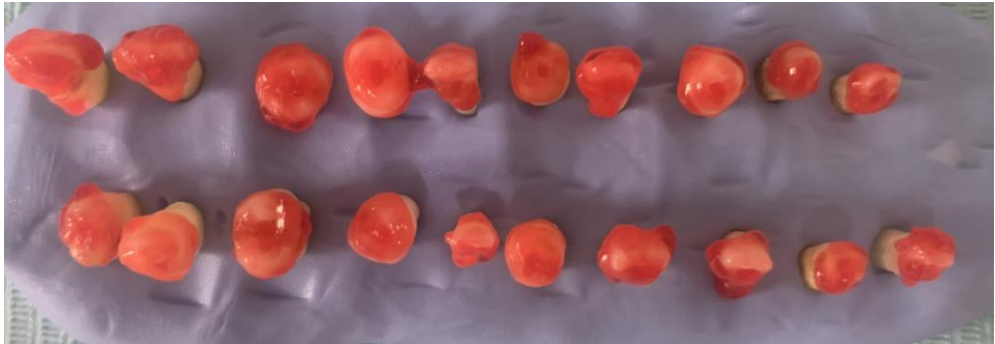


Imagen 3.2.4-3. Especímenes en su base de silicona con el gel blanqueante

De aquí se extrajeron 6 dientes que pasaron a formar parte del grupo II (control negativo) (Imagen 3.2.4-4): dientes sometidos a un tratamiento de conductos y blanqueados a los cuales se le aplicó un tratamiento restaurador adhesivo inmediato (que será explicado a continuación). Quedando así 100 dientes restantes que se dividieron en cinco grupos, obteniendo así siete grupos de estudio en total.



Imagen 3.2.4-4. Grupos control positivo y negativo en su base de silicona

3.2.5 Distribución de grupos de estudio:

Los 112 dientes del conjunto de la muestra fueron distribuidos en los siguientes grupos:

- **Grupo I (control positivo):** 6 dientes ($n_i=6$) sometidos a un tratamiento endodóntico mecánico sin irrigantes, no blanqueados, a los cuales se les adhiere el material restaurador inmediatamente.
- **Grupo II (control negativo):** 6 dientes ($n_i=6$) sometidos a un tratamiento endodóntico mecánico y químico con irrigantes y blanqueados a los cuales se les adhiere inmediatamente el material restaurador.
- **Grupo III** ($n_i=20$): 20 dientes sometidos a un tratamiento con irrigantes y blanqueados a los que no se aplicó ningún agente antioxidante y se esperaron dos semanas ([Imagen 3.2.5-1](#)) en proceder al tratamiento restaurador adhesivo. Se introdujeron en sus respectivos recipientes con timol y se dejaron durante 7 días consecutivos antes de su obturación.



Imagen 3.2.5-1. Dientes blanqueados y limpios a la espera de ser restaurados en una semana

- **Grupo IV** ($n_i=20$): 20 dientes sometidos a un tratamiento con irrigantes y blanqueados a los que se les aplicó ácido ascórbico al 10% (Imagen 3.2.5-2) durante 5 min (Imagen 3.2.5-3) para, posteriormente, proceder a un tratamiento restaurador adhesivo inmediatamente.



Imagen 3.2.5-2. Preparado farmacéutico de ácido ascórbico 10% en emulsión



Imagen 3.2.5-3. Dientes blanqueados con la aplicación inmediata de ácido ascórbico

- **Grupo V** ($n_i=20$): 20 dientes sometidos a un tratamiento con irrigantes y blanqueados a los que se les aplicó ácido ascórbico al 10% durante 10 min para, posteriormente, proceder a un tratamiento restaurador adhesivo inmediatamente.
- **Grupo VI** ($n_i=20$): 20 dientes sometidos a un tratamiento con irrigantes y blanqueados a los que se les aplicó resveratrol durante 5 min para, posteriormente, proceder a un tratamiento restaurador adhesivo inmediatamente.

El resveratrol (Imagen 3.2.5-4) es un estilvenoide (3'5'4'trihidroxi-trans-estilbeno o $C_{14}H_{12}O_3$) con peso molecular de 228'24g/mol. Es un compuesto químico que se encuentra en varias plantas, incluyendo la piel de las uvas, arándanos, frambuesas y moras. Es un fenol natural y una fitoalexina que se produce de

manera natural en las plantas como respuesta a una lesión o cuando se encuentran bajo el ataque de un patógeno y posee propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antivirales y protectoras.



Imagen 3.2.5-4. Resveratrol en solución acuosa

Se utilizó a una concentración 1M, que equivale a una concentración del 25% (p/v), para ello, se disolvieron 10g de resveratrol en 40 ml de DMSO (dimetilsufóxido o CH_3SOCH_3), un disolvente orgánico.

- **Grupo VII** ($n_i=20$): 20 dientes sometidos a un tratamiento con irrigantes y blanqueados a los que se les aplicó resveratrol durante 10 min para, posteriormente, proceder a un tratamiento restaurador adhesivo inmediatamente.

A continuación, presentamos una tabla resumen en la que se resumen los grupos de estudio ([Tabla 3.2-1](#)).

GRUPO	ESPECÍMENS	¿Blanqueamiento?	¿Agente Antioxidante?
I (Control positivo)	6	No	No
II (Control Negativo)	6	Sí	No: adherir inmediatamente
III (Grupo Tiempo)	20	Sí	No: esperar 1 semana para adherir
IV (Grupo AA5)	20	Sí	Sí: Ácido ascórbico al 10% durante 5 min
V (Grupo AA10)	20	Sí	Sí: Ácido ascórbico al 10% durante 10 min
VI (Grupo RV5)	20	Sí	Sí: Resveratrol durante 5 min
VII (Grupo RV10)	20	Sí	Sí: Resveratrol durante 10 min

Tabla 3.2-1. Resumen grupos de estudio

3.2.6 Protocolo de adhesión

Tras el blanqueamiento de los dientes, se procede a la restauración del mismo sistema adhesivo para todos los grupos con el siguiente protocolo:

1. Grabado ácido: se realizó una aplicación de ácido ortofosfórico al 37% Octacid (Laboratorios Clarben SA, Madrid, España) de 15 segundos en dentina ([Imagen 3.2.6-1](#)), tras lo cual se procedió a un lavado con aerosol de agua y aire sin desecar durante 60 segundos



Imagen 3.2.6-1. Dientes con el gel de ácido ortofosfórico

2. Sistema Adhesivo: se aplicó con un microbrush una gota del adhesivo universal autograbante Futurabond M+ (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania) ([Imagen 3.2.6-2](#)) mezclado con rodamina al 0,01% (Rhodamine B, de Panreac Química SA, Barcelona, España) disuelta en suero fisiológico a razón de 10 gr/l. Una vez se tenía mezclado el adhesivo con la rodamina, se realizaron movimientos de frotado suave durante 20 segundos, se secó el exceso de solvente durante 5 segundos y se fotopolimerizó durante 10 segundos con lámpara de polimerización convencional con lámpara LED Valo Grand (Ultradent Products Inc., South Jordan, EE. UU.) entre 385 y 515 nm ([Imagen 3.2.6-3](#)).



Imagen 3.2.6-2. Futurabond M+



Imagen 3.2.6-3. Aplicación del adhesivo con rodamina en el interior de la cámara pulpar

3. Material Restaurador: se aplicó el composite nano-híbrido universal Grandio (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania) (Imagen 3.2.6-4) color A4 en incrementos de 2 mm de espesor, fotopolimerizando cada capa durante 20 segundos.



Imagen 3.2.6-4. Composite nano-híbrido universal utilizado para la restauración del diente

A continuación, se presenta una tabla resumen con todos los productos utilizados en este trabajo experimental (Tabla 3.2-2).

PRODUCTO	COMPUESTO QUÍMICO	MARCA COMERCIAL	TIEMPO DE APLICACIÓN SEGÚN EL FABRICANTE
Agente conservante	Timol al 0'2%	Preparado farmacológico	Máximo un mes
Agente desinfectante	NaOCl al 6%	CanalPro NaOCl 6%, Coltene/Whaledent Inc. (Cuyahoga Falls, OH, USA)	20ml durante 10min
Agente quelante	EDTA al 17%	CanalPro EDTA 17%, Coltene/Whaledent Inc. (Cuyahoga Falls, OH, USA)	Irrigación de 5 ml
Agente blanqueante	PH al 35%	Perfect Bleach Office+ (Voco GMBH, Cuxaven, Alemania)	3 repeticiones de 15 min
Agente antioxidante	Ácido ascórbico al 10% en emulsión	Preparado farmacológico	5 min o 10 min
Agente antioxidante	Resveratrol en solución acuosa	Preparado farmacológico	5 min o 10 min
Acondicionador del esmalte	Ácido ortofosfórico al 37% en gel	Octacid (Laboratorios Clarben Inc., Madrid, España)	15 segundos en dentina
Sistema adhesivo	Agente adhesivo universal autograbante con BisGMA, HEMA, etanol, agua HEDMA, éster de ácido fosfórico de metacrilato, ácido polialquenoico, funcionalizado con metacrilato, UDMA, iniciadores, estabilizadores.	Futurabond M+ (Voco GMBH, Cuxaven, Alemania)	Aplicar con movimientos de frotado suave durante 20 segundos, secado del exceso de solvente durante 5 segundos y fotopolimerización durante 10 segundos
Material restaurador	Composite nanocerámico	Grandio (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania)	Aplicar en incrementos de 2mm de espesor fotopolimezando cada capa durante 20 segundos
Materiales para la observación microscópica	Rodamina 0,01%	Rhodomine B, (Panreac Química SA, Barcelona, España)	Añadir al sistema adhesivo en proporción 1:1

Tabla 3.2-2. Resumen de todos los productos utilizados en el trabajo experimental

3.2.7 Sección de los dientes

Posteriormente, para poder visualizar el sellado a nivel cervical de los dientes, cada diente fue cortado 2 mm por debajo de la unión amelocementaria con un disco de diamante de doble cara 943 para pieza de mano (Komet Dental, Lemgo, Alemania) ([Imagen 3.2.7-1](#)) (Whang y Shin 2015; Correa y cols., 2016; Cavalli y cols., 2018).



[Imagen 3.2.7-1. Disco de diamante de doble cara 943 para pieza de mano Komet](#)

Para poder tener una visión directa de las cámaras pulpares obturadas también se cortó la parte coronal del diente dejando unos cortes de la parte cervical de diente ([Imagen 3.2.7-2](#)) que se pulieron con discos de pulido Sof-Lex (3M ESPE, Maplewood, EE. UU.) de grosores diferentes con refrigeración acuosa ([Imagen 3.2.7-3](#)), pasados consecutivamente siguiendo ese orden. Se terminó la preparación pasando un disco de fieltro para pulir las preparaciones, las cuales se aplicaron en el portaobjetos con loctite para poder luego observarlo al microscopio confocal láser ([Imagen 3.2.7-4](#)).



Imagen 3.2.7-2. Proceso con los cortes cervicales de la muestra



Imagen 3.2.7-3. Discos de pulido Sof-Lex de diferentes grosores

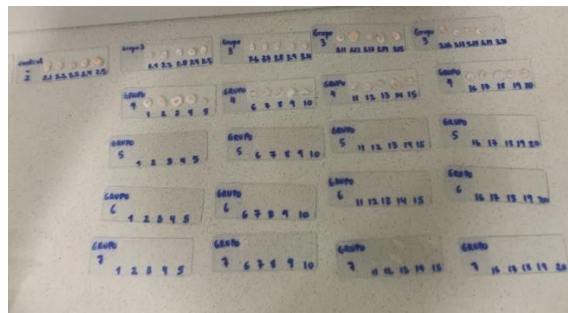


Imagen 3.2.7-4. Preparación de los cortes en portaobjetos

3.2.8 Método de observación

Tras la preparación de los especímenes, se llevaron las muestras al laboratorio para su observación microscópica. La técnica escogida fue la observación a través del microscopio confocal láser.



Imagen 3.2.8-1. Microscopio con focal espectral de Leica SP8 de la Universitat de València

Utilizamos un microscopio confocal espectral de Leica SP8 (Wetzlar, Alemania) (Imagen 3.2.8-1) con un software LAS X (Leica, Wetzlar, Alemania). Es un tipo de microscopio de fluorescencia, pero su excitación es a través de láseres y no de lámparas. Este microscopio de fluorescencia confocal, a diferencia del de fluorescencia convencional, permite hacer secciones ópticas de la muestra pudiendo ver el plano que se desee o interese (en el eje Z), obteniendo imágenes de mayor nitidez y contraste, mayor resolución vertical y horizontal, consiguiendo así imágenes tridimensionales.

El principio de la microscopía confocal se basa en eliminar la luz reflejada o fluorescente procedente de los planos fuera de foco. Para ello, se ilumina una pequeña zona de la muestra y se toma el haz luminoso que proviene del plano focal, eliminándose los haces procedentes de los planos inferiores y superiores. El funcionamiento básico es el siguiente: la luz procede de un láser que atraviesa el agujerito de iluminación, es reflejada mediante un espejo dicróico y enfocada en un

punto del espécimen a través del objetivo (Watson y cols., 2000, Nawrocka y cols., 2021).

La señal emitida por el punto iluminado (fluorescencia o luz reflejada) vuelve por el mismo camino óptico, pasa a través del espejo y es enfocada en un fotomultiplicador por el agujerito de detección que elimina la señal procedente de la zona fuera de foco. Un conjunto de filtros de emisión colocados delante del fotomultiplicador permite seleccionar la longitud de onda de emisión del fluoróforo utilizado. En este caso, la longitud de onda utilizada para excitar la rodamina fue de 573nm. La luz emitida es recogida en un fotomultiplicador donde se transforma en una señal de video. Otros sistemas permiten recoger las diferentes longitudes de onda y, con convertidores analógico/digitales, transforma las señales de vídeo en imágenes digitales.

En el proceso de restauración del diente se le añade rodamina disuelta en el suero fisiológico a razón de 10 gr/l. Este colorante es el responsable de dar un color rojo a las imágenes cuando se excita.

3.2.9 Análisis de las imágenes

Una vez obtenidas las imágenes del microscopio confocal, las visualizamos a través del programa LAS (Leica Application Suite) X Microscope Software Platform (Leica,

Wetzlar, Alemania), (Imagen 3.2.9-1) y se procedió a realizar las mediciones de éstas a través del programa QuPath 0.4.4 (GitHub, Edimburgo, Reino Unido).

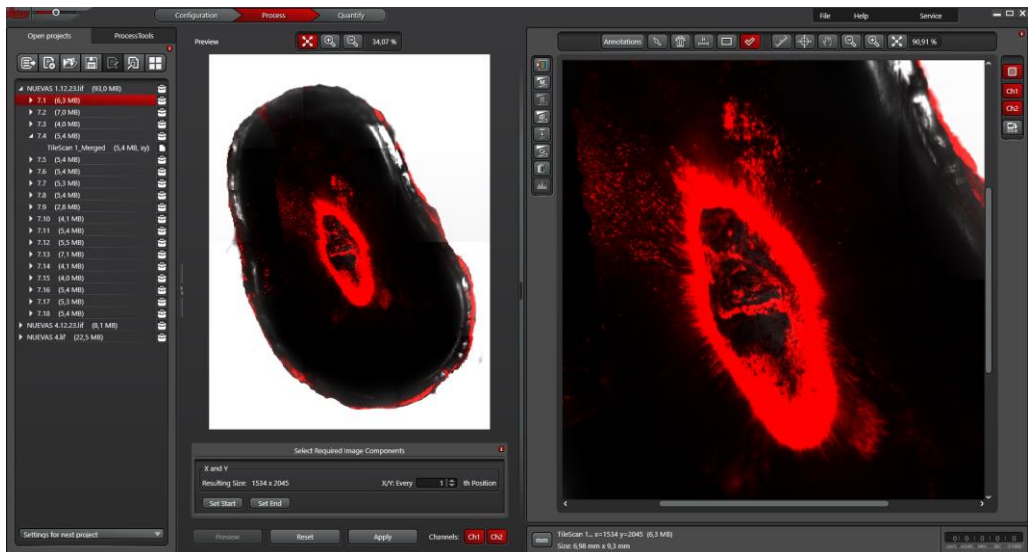


Imagen 3.2.9-1. Captura de pantalla en la que se muestra la imagen en microscopía confocal de la sección de un diente en dos aumentos: al 34,07% (en la izquierda) y al 90,91% (en la derecha)

Se captaron imágenes de todos los especímenes (112 cortes de dentina) con el objetivo de 5 aumentos, captando la rodamina y trabajando con las proyecciones máximas del microscopio, es decir, con las emisiones máximas de luz emitidas por los fluorocromos en un mismo plano captados por los láseres del microscopio confocal.

Con este objetivo (5 aumentos), fue necesario fotografiar los cortes por partes y luego unirlos, ya que es imposible visualizar todo el corte de dentina en una sola imagen. Esto supuso hacer una media de 6 imágenes por diente.

A continuació, se importaron estas imàgenes al programa de anàlisis de dats QuPath 0.4.4 (GitHub, Edimburgo, Reino Unido). QuPath es un software de còdigo obert per a l'anàlisis de bioimàgenes i patologia digital. Es una eina que permet treballar amb imàgenes de diapositives senceres i se utilitza a menudo per a aplicacions de patologia digital.

Per a nostre cometido, establimos 3 paràmetres de mesura:

- Porcentaje de àrea de dentina con penetració de adhesivo.
- Porcentaje de perímetro con penetració del adhesivo en la dentina.
- Porcentaje de penetració del adhesivo en dentina.

3.2.9.1 Porcentaje de àrea de dentina con penetració de adhesivo

Per a calcular el porcentaje de àrea de dentina con penetració, primero se calculó el àrea total de dentina del corte que se visualizó, con una magnificació del 50%. Per a ello, fue calculada el àrea del corte con la herramienta de “varita” que selecciona con un simple toque los cambios de color y delimita fácilmente el àrea total del corte (Imagen 3.2.9-2), denominándola en el programa como “àrea total”.

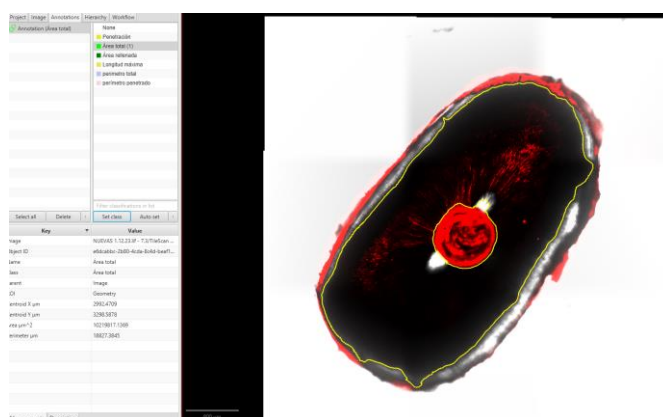


Imagen 3.2.9-2. En amarillo, área total del corte, trazada con la herramienta “varita”

A continuación, se seleccionó el área penetrada por el adhesivo con la herramienta de “polígono”. Esta herramienta permite seleccionar, dentro de un polígono, la porción de la imagen que se quiere establecer (Imagen 3.2.9-3), y que se denomina “área rellenada”.

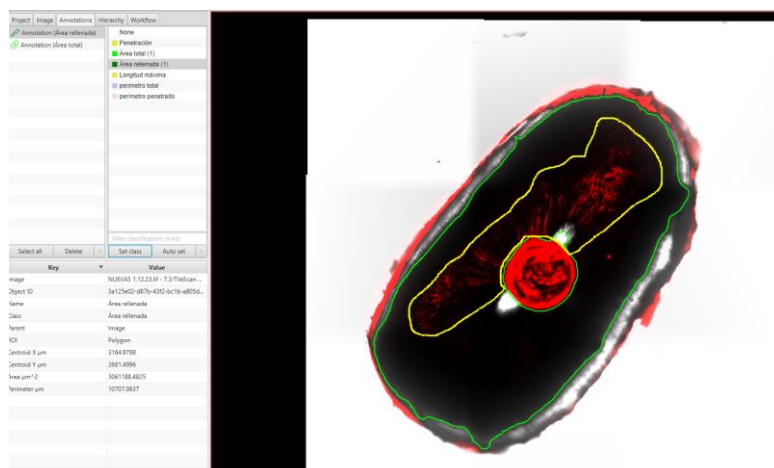


Imagen 3.2.9-3. En amarillo, área de penetración del adhesivo dentro de los túbulos trazada con la herramienta “polígono”

Tanto una opción como otra ofrecía una medición en μm^2 , es decir, una medición bidimensional que permitió su posterior comparación. A continuación, las dos medidas se trasladan a una ecuación que proporciona el porcentaje de área penetrada:

$$\% \text{ de área de dentina penetrada} = \frac{\text{área rellenada por adhesivo en dentina}}{\text{área total de dentina}} \cdot 100$$

3.2.9.2 Porcentaje de perímetro con penetración del adhesivo en dentina

Para calcular el porcentaje de perímetro con penetración del adhesivo en dentina, primero se calculó el perímetro de la luz del conducto, con una magnificación del 50%. Para ello, se seleccionó la herramienta de “polilínea” ([Imagen 3.2.9-4](#)) o bien la de “elipse” ([Imagen 3.2.9-5](#)), según la forma del conducto. Con una magnificación del 50%, se trazó la línea que describiría el perímetro total del conducto y se estableció en el programa como “perímetro total”. El programa ofreció una longitud en μm que, más tarde, fue trasladada a un documento Excel para realizar los cálculos.

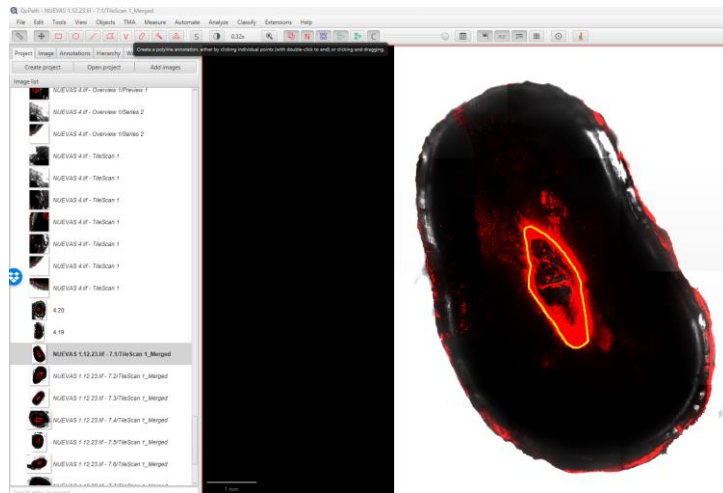


Imagen 3.2.9-4. Trazado del perímetro de la luz del conducto con la herramienta de polilínea

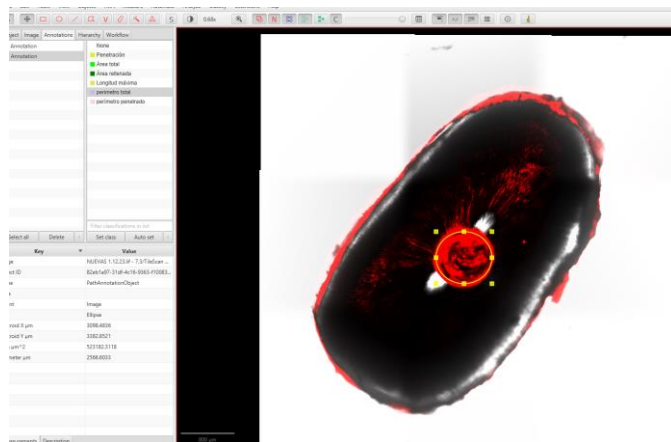


Imagen 3.2.9-5. En amarillo, trazado del perímetro de la luz del conducto con la herramienta de elipse

A continuación, sobre este trazado, se midió el perímetro penetrado, dibujando una polilínea sobre este perímetro en las zonas donde se observó penetración del adhesivo a través de los túbulos (Imagen 3.2.9-6). A esta medida fue denominada en el programa como “perímetro penetrado”.

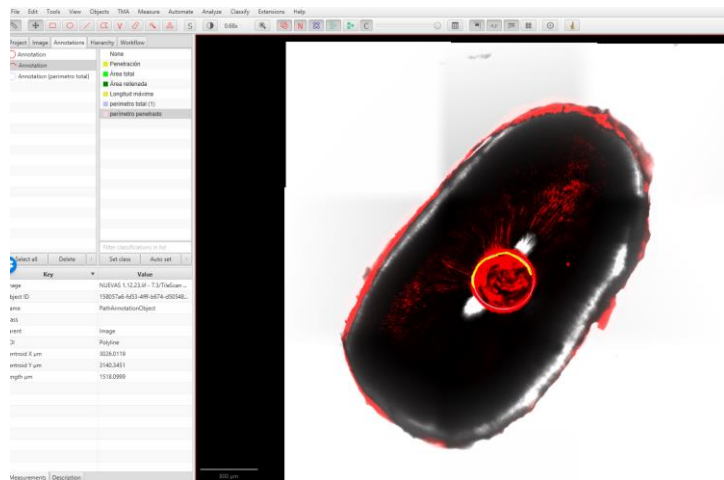


Imagen 3.2.9-6. En amarillo (sobre el perímetro total, en rosa), trazado del perímetro penetrado por el adhesivo

Con estos datos se calculó el porcentaje de perímetro penetrado de la siguiente manera:

$$\% \text{ de per\u00edmetro penetrado} = \frac{\text{per\u00edmetro penetrado por adhesivo en dentina}}{\text{per\u00edmetro total de dentina}} \cdot 100$$

3.2.9.3 Porcentaje de penetración del adhesivo en dentina

Para realizar el cálculo del porcentaje de penetración del adhesivo, se midió el túbulo más largo penetrado, con una magnificación del 50%, mediante la opción del programa de trazar una “línea”. En este caso, se visualizó el túbulo penetrado por adhesivo más largo y se marcó con una línea (Imagen 3.2.9-7), desde la luz del conducto hasta el punto de máxima penetración. Ante la duda, se trazaron un par de líneas y, como el programa

realiza una medición inmediata, se desechaba la medida más corta. Esta medida se denominó “penetración.”

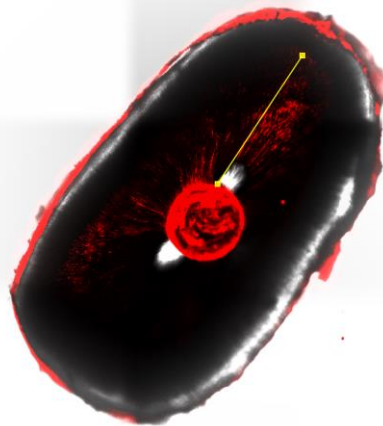
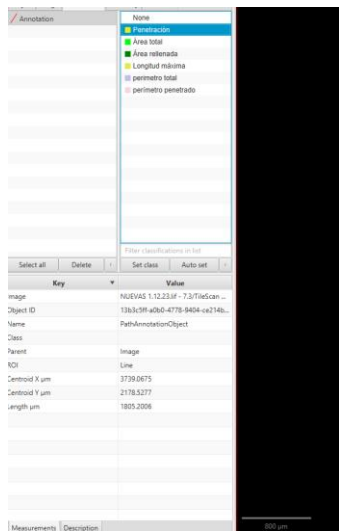


Imagen 3.2.9-7. En amarillo, línea de penetración máxima de un adhesivo en un túbulo

También se obtuvo la medida de la profundidad máxima de un túbulo desde la luz del conducto hasta el exterior del diente trazando una línea paralela a la de penetración máxima (Imagen 3.2.9-8). Así resultaba una medida, nombrada en el programa como “longitud máxima”, y se calculó el “porcentaje de penetración del adhesivo en dentina” de la siguiente manera:

$$\% \text{ de penetración del adhesivo en dentina} = \frac{\text{penetración del adhesivo en dentina}}{\text{longitud máxima del túbulo en dentina}} \cdot 100$$

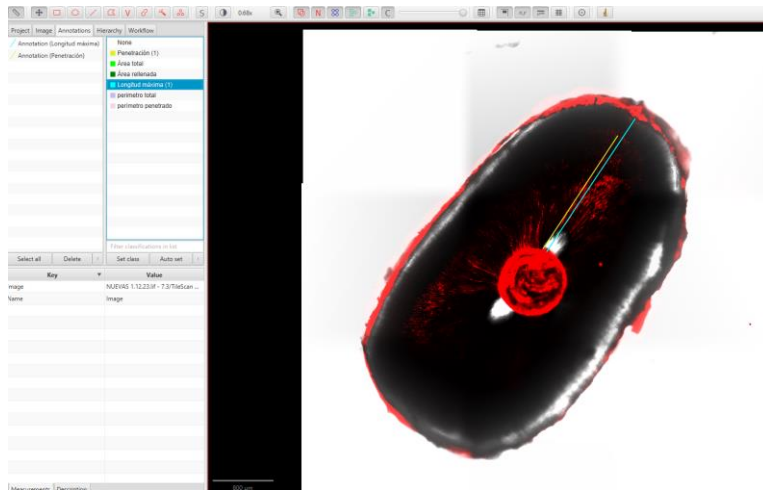


Imagen 3.2.9-8. En amarillo, el túbulo con mayor penetración de adhesivo y en azul, el túbulo de mayor longitud

Todas estas medidas fueron importadas a una tabla Excel, señalando las siguientes variables para todos los grupos de estudio (Anexo 3):

1. Área rellenada con adhesivo en dentina.
2. Área total de dentina.
3. Porcentaje de área de dentina con penetración.
4. Perímetro del conducto.
5. Perímetro penetrado por el adhesivo.
6. Porcentaje de perímetro con penetración del adhesivo en la dentina.
7. Penetración del adhesivo en dentina.
8. Longitud máxima del túbulo en dentina.
9. Porcentaje de penetración del adhesivo en dentina.

3.2.10 Análisis estadístico

Mediante el paquete estadístico SPSS 28.0.1.1 (SPSS Inc., Chicago, EE. UU.), se determinó la distribución de las variables “porcentaje de área de dentina con penetración”, “porcentaje de profundidad de penetración del adhesivo en dentina” y “porcentaje de perímetro con penetración”.

Se aplicó el test de Shapiro Wilk para establecer la distribución de las variables en cada grupo de estudio. Mediante el test de Levene, se determinó la homogeneidad de las varianzas. Para las comparaciones dos a dos de los grupos en los que las variables seguían una distribución normal, se aplicó el test ANOVA, junto con las pruebas *post hoc* de Scheffe o Games-Howell, dependiendo de que las varianzas fueran o no homogéneas. En el caso de los grupos en los que las variables no seguían una distribución normal, se aplicó el test de Wilcoxon para su comparación y para la comparación por parejas el test U de Mann-Whitney. En todos los casos se utilizó un nivel de significación de $p < 0,05$.

Se presentarán los valores descriptivos de cada variable, en forma de media, desviación estándar, intervalos de confianza, mediana y rango intercuartílico y los valores de p relativos a las comparaciones dos a dos de las variables entre los diferentes grupos. Se representarán visualmente, en un gráfico de cajas, las distribuciones de las variables para cada grupo.

RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Test Shapiro – Wilk (normalidad de las variables)

Se muestran, a continuación, los resultados de aplicar el test de Shapiro – Wilk a los datos obtenidos en la experimentación, estableciendo la distribución de las variables en cada grupo de estudio (Tabla 4.1-1).

- La variable *“Porcentaje de profundidad de penetración del adhesivo”* seguía una distribución normal para todos los grupos de estudio ($p > 0,05$).
- Para la variable *“Porcentaje de área de dentina con penetración de adhesivo”*, los dos grupos en los que se aplicó ácido ascórbico no seguían una distribución normal ($p < 0,05$).
- Para la variable *“Porcentaje de perímetro con penetración de adhesivo”*, solo el control negativo seguía una distribución normal.

		Test de Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl*	Sig**
Porcentaje de profundidad de penetración del adhesivo	Control positivo (no blanqueado)	0,861	6	0,192
	Control negativo (adhesión inmediata tras blanqueamiento)	0,971	6	0,899
	Adhesión una semana tras el blanqueamiento	0,954	20	0,438

	Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 5 min	0,923	20	0,115
	Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 10 min	0,929	20	0,146
	Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 5 min	0,936	20	0,201
	Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 10 min	0,932	20	0,169
Porcentaje de área de dentina con penetración de adhesivo	Control positivo (no blanqueado)	0,895	6	0,345
	Control negativo (adhesión inmediata tras blanqueamiento)	0,89	6	0,316
	Adhesión una semana tras el blanqueamiento	0,93	20	0,155
	Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 5 min	0,877	20	0,016
	Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 10 min	0,885	20	0,022
	Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 5 min	0,958	20	0,499
	Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 10 min	0,917	20	0,089
Porcentaje de perímetro con penetración de adhesivo	Control positivo (no blanqueado)	0,496	6	<,001
	Control negativo (adhesión inmediata tras blanqueamiento)	0,944	6	0,693
	Adhesión una semana tras el blanqueamiento	0,895	20	0,033
	Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 5 min	0,826	20	0,002
	Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 10 min	0,863	20	0,009
	Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 5 min	0,854	20	0,006
	Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 10 min	0,86	20	0,008

Tabla 4.1-1. Test de Shapiro-Wilk. Pruebas de normalidad de las variables. *Gl= grados de libertad; **Sig= significación.

Considerando la distribución anterior, se analizaron en los siguientes apartados cada una de las variables analizadas, representándose las tendencias centrales y la dispersión de datos de cada una de ellas, a partir de los cuales se obtuvieron los resultados descritos.

4.2 Tendencias centrales y dispersión de datos de las variables

4.2.1 Porcentaje de profundidad de penetración del adhesivo

Respecto a la variable “*Porcentaje de profundidad de penetración del adhesivo*”, se obtuvieron los datos reflejados en la tabla siguiente (Tabla 4.2-1).

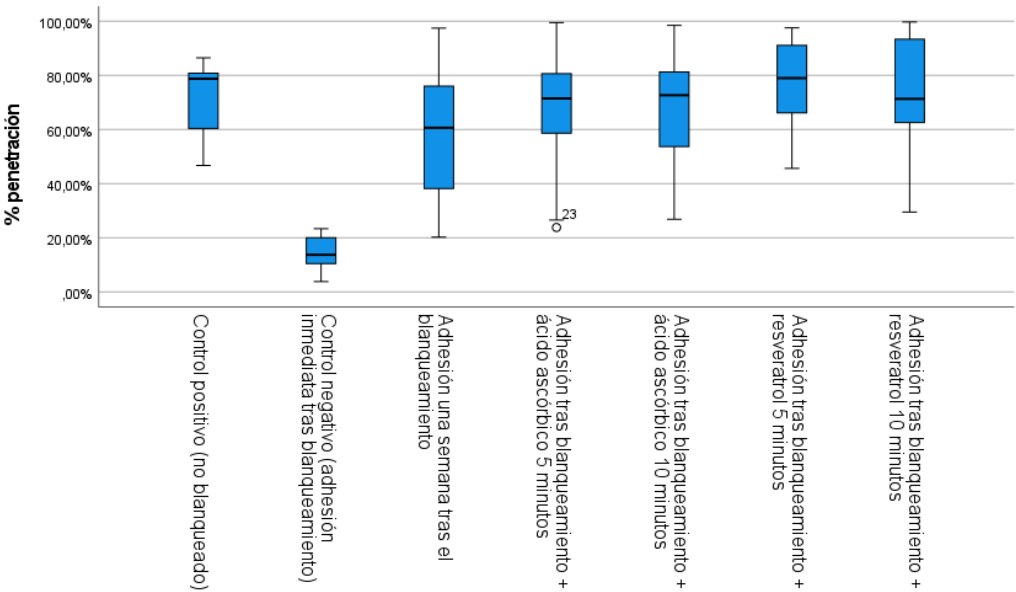
GRUPO	n _i	Media	Desviación estándar	Límite de confianza al 95%		Mediana	Rango inter-cuarlítico
				Límite inferior	Límite superior		
(*) Control positivo (no blanqueado)	6	72,00%	15,19%	56,06%	87,95%	78,76%	25,21%
(*) Control negativo (adhesión inmediata tras blanqueamiento)	6	14,20%	6,92%	6,93%	21,46%	13,73%	12,03%
(*) Adhesión una semana tras el blanqueamiento	20	57,91%	24,15%	46,61%	69,22%	60,64%	40,77%
(*) Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 5 minutos	20	68,06%	23,37%	57,59%	78,53%	71,52%	23,32%
(*) Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 10 min	20	66,59%	20,95%	56,78%	76,40%	72,68%	28,43%

(*) Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 5 min	20	76,35%	16,21%	68,76%	83,94%	78,99%	26,85%
(*) Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 10 min	20	73,60%	18,80%	64,80%	82,39%	71,35%	32,22%

Tabla 4.2-1. Valores descriptivos del porcentaje de profundidad de penetración del adhesivo

(*) Muestras las variables que siguen una distribución normal conforme al test de Shapiro-Wilk.

A partir de los datos anteriores, se extrajo la siguiente gráfica (Gráfica 4-1), que representa la distribución de la mediana de cada grupo y la tendencia central de los valores mediante sus cuartiles.



Gráfica 4-1. Representación gráfica del porcentaje de profundidad de penetración en la dentina del adhesivo

En ella, se puede observar como en el grupo control negativo se consiguió muy poca penetración del adhesivo en los túbulos dentinarios. Sin embargo, se logró muy buena penetración en los demás grupos de estudio: esperar una semana, con aplicación de AA 5 y 10 min; y resveratrol 5 y 10min, en comparación con el grupo control positivo.

En el grupo en el que se esperó una semana se alcanzaron unos resultados más variables y, aunque la media se acerca a la del grupo control positivo, son inferiores. Sin embargo, los resultados de los grupos en los que se aplicó un antioxidante se acercaron mucho a los del grupo control positivo, sin importar el tiempo de aplicación del adhesivo. Destacan los datos de penetración del adhesivo en el grupo del resveratrol que superaron los resultados obtenidos en el grupo control positivo, sin importar el tiempo de aplicación.

4.2.2 Porcentaje de área de dentina con penetración de adhesivo

Respecto a la variable “*Porcentaje de área de dentina con penetración del adhesivo*”, se obtuvieron los datos reflejados en la tabla siguiente (Tabla 4.2-2).

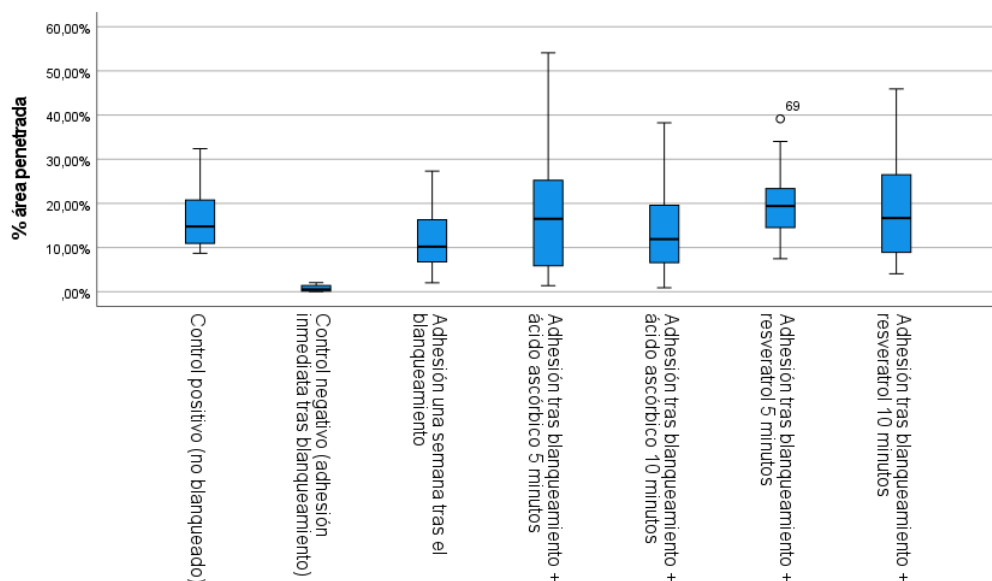
GRUPO	N	Media	Desviación estándar	Límite de confianza al 95%		Mediana	Rango intercuartílico
				Límite inferior	Límite superior		
(*) Control positivo (no blanqueado)	6	17,06%	8,58%	8,05%	26,07%	14,77%	13,29%

(*) Control negativo (adhesión inmediata tras blanqueamiento)	6	0,79%	0,80%	-0,04%	1,63%	0,53%	1,47%
(*) Adhesión una semana tras el blanqueamiento	20	11,99%	7,67%	8,40%	15,59%	10,20%	9,66%
Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 5 min	20	18,95%	15,31%	11,87%	26,03%	16,51%	20,03%
Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 10 min	20	14,13%	10,09%	9,40%	18,85%	11,91%	13,49%
(*) Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 5 min	20	20,19%	7,95%	16,46%	23,91%	19,42%	9,16%
(*) Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 10 min	20	19,24%	12,29%	13,49%	25,00%	16,69%	19,28%

Tabla 4.2-2. Valores descriptivos del porcentaje de área de dentina con profundidad de penetración del adhesivo

(*) Muestras las variables que siguen una distribución normal conforme al test de Shapiro-Wilk.

A partir de los datos anteriores se extrajo la siguiente gráfica (Gráfica 4-2), que representa la distribución de la mediana de cada grupo y la tendencia central de los valores mediante sus cuartiles.



Gráfica 4-2. Representación gráfica del porcentaje de área de dentina con penetración del adhesivo

En ella, se observó un comportamiento parecido a la variable anterior de profundidad de penetración. En este caso, se repitieron los resultados para el grupo control negativo, en el que apenas se encontró dentina penetrada por adhesivo.

En los demás grupos (tanto el que se esperó una semana como en los que se aplicó un antioxidante), se lograron resultados muy satisfactorios y comparables a los del grupo control positivo. En el grupo en el que se esperó una semana se alcanzaron resultados un poco inferiores a los del grupo control positivo. Los grupos en los que se aplicó el antioxidante (tanto AA como resveratrol) adquirieron resultados iguales (en el caso del AA) o incluso superiores (en el caso del resveratrol) a los del grupo control positivo, sin importar el tiempo de aplicación.

4.2.3 Porcentaje de perímetro con penetración de adhesivo

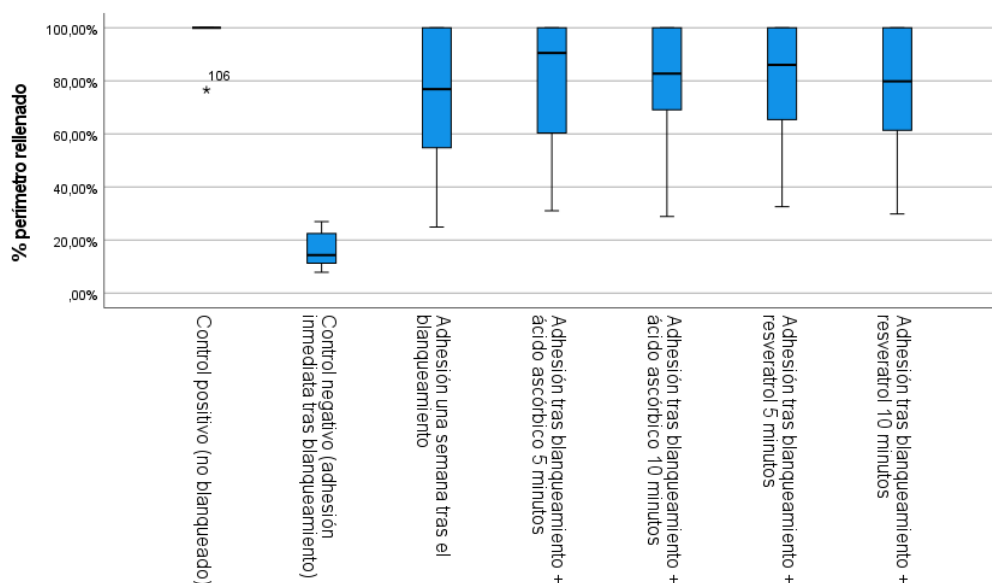
Respecto a la variable “Porcentaje de perímetro de dentina con penetración del adhesivo”, se obtuvieron los datos reflejados en la tabla siguiente (Tabla 4.2-3).

				Límite de confianza al 95%			
GRUPO	N	Media	Desviación estándar	Límite inferior	Límite superior	Mediana	Rango inter-cuarlítico
Control positivo (no blanqueado)	6	96,09%	9,56%	86,06%	106,13%	100,00%	5,86%
(*) Control negativo (adhesión inmediata tras blanqueamiento)	6	16,20%	7,24%	8,60%	23,81%	14,32%	13,15%
Adhesión una semana tras el blanqueamiento	20	73,41%	24,57%	61,91%	84,91%	76,88%	46,48%
Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 5 min	20	79,41%	23,49%	68,41%	90,41%	90,50%	41,06%
Adhesión tras blanqueamiento + ácido ascórbico 10 min	20	78,66%	22,41%	68,17%	89,15%	82,73%	31,87%
Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 5 min	20	80,59%	20,85%	70,83%	90,35%	86,04%	38,25%
Adhesión tras blanqueamiento + resveratrol 10 min	20	76,68%	24,00%	65,45%	87,92%	70,83%	39,37%

Tabla 4.2-3. Valores descriptivos del porcentaje de perímetro con penetración del adhesivo

(*) Muestras las variables que siguen una distribución normal conforme al test de Shapiro-Wilk.

A partir de los datos anteriores se extrajo la siguiente gráfica (Gráfica 4-3), que representa la distribución de la mediana de cada grupo y la tendencia central de los valores mediante sus cuartiles.



Gráfica 4-3. Representación gráfica del porcentaje de perímetro con penetración del adhesivo

En ella, se observa que el perímetro penetrado por adhesivo en el caso del control negativo (adherido inmediatamente después de blanquear) es muy limitado comparado al del grupo control positivo.

Respecto a la comparación del grupo control positivo con el resto de los grupos, éste destacó sobre los demás, aunque en los grupos en los que se empleó un antioxidante

tras el blanqueamiento, obtuvieron mejores resultados que el grupo en el que se esperó una semana, sin ser estas diferencias significativas.

4.3 Valor del estadístico “F” de las variables

En la tabla siguiente (Tabla 4.3-1) se expresa el valor del estadístico “F”, para cada variable, donde se aprecia que existieron diferencias significativas entre los grupos para las tres variables, lo que justifica la aplicación de las pruebas *post hoc*, para comparar los grupos dos a dos, mediante los tests estadísticos adecuados a cada caso, tal como se comentará a continuación.

		F	Sig.
Porcentaje de profundidad de penetración del adhesivo	Entre grupos	8,7	<,001
	Dentro de grupos		
	Total		
Porcentaje de área de dentina con penetración de adhesivo	Entre grupos	3,7	0,002
	Dentro de grupos		
	Total		
Porcentaje de perímetro con penetración de adhesivo	Entre grupos	8,4	<,001
	Dentro de grupos		
	Total		

Tabla 4.3-1. Valores del estadístico F de Snedecor para las variables del estudio (Test ANOVA)

A partir de estos datos, se confirma que existen diferencias estadísticamente significativas las siguientes observaciones para cada una de las variables analizadas, como se analizará en el punto 4.5 (Comparaciones ente grupos).

4.4 Valores estadísticos de Levene

Se analizó la homogeneidad de las varianzas para decidir que pruebas *post-hoc* se iban a aplicar.

Para la variable “Porcentaje de profundidad de penetración del adhesivo”, las varianzas eran homogéneas ($p > 0,05$), dado que no eran todos los grupos del mismo tamaño, por lo que se utilizó el test de Scheffe para las comparaciones dos a dos.

Para la variable “Porcentaje de área de dentina con penetración de adhesivo”, las varianzas no eran homogéneas ($p < 0,05$), por lo que para la comparación entre grupos se utilizó el test de Games-Howell.

En el caso de la variable “Porcentaje de perímetro con penetración de adhesivo”, dado que la distribución de los grupos no seguía una distribución normal excepto para el control negativo, se optó por utilizar el test U de Mann-Whitney para las comparaciones por pares de grupos.

En la tabla (Tabla 4.2.3-) presentada a continuación, se muestran los valores estadísticos de Levene para cada variable y su significación estadística:

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Porcentaje de profundidad de	Se basa en la media	1,677	6	105	0,13
	Se basa en la mediana	1,387	6	105	0,23

penetración del adhesivo	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,387	6	93	0,23
	Se basa en la media recortada	1,66	6	105	0,14
Porcentaje de área de dentina con penetración de adhesivo	Se basa en la media	3,286	6	105	0,01
	Se basa en la mediana	2,641	6	105	0,02
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	2,641	6	77,9	0,02
	Se basa en la media recortada	3,063	6	105	0,01
Porcentaje de perímetro con penetración de adhesivo	Se basa en la media	2,445	6	105	0,03
	Se basa en la mediana	2,055	6	105	0,07
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	2,055	6	96,3	0,07
	Se basa en la media recortada	2,363	6	105	0,04

Tabla 4.2.3-2. Prueba de homogeneidad de las varianzas

4.5 Comparaciones entre grupos

Tal y como se indicaba anteriormente, el análisis estadístico “F” conduce a determinar la conveniencia de aplicar distintos tests para hacer comparaciones entre grupos. Cada una de las comparaciones se muestran a continuación.

Al analizar las comparaciones entre grupos en cuanto a profundidad de penetración del adhesivo (Tabla 4.5-1) se observó que solo existían diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control negativo y el resto de los grupos.

Entre el resto de los grupos, no hubo diferencias estadísticamente significativas. Es decir, los grupos en los que se esperó una semana o se aplicó alguno de los dos

antioxidantes (tanto durante 5 como 10 min) resultaron equivalentes al grupo control positivo (grupo en el que no se blanquearon los especímenes) en cuanto a penetración en dentina.

GRUPO	Control positivo	Control negativo	Adhesión 1 semana después	AA 5 min	AA 10 min	Resveratrol 5 min
Control negativo	<0,001					
Adhesión 1 semana después	0,88	<0,001				
AA 5 min	1	<0,001	0,85			
AA 10 min	0,99	<0,001	0,92	1		
Resveratrol 5 min	1	<0,001	0,21	0,94	0,88	
Resveratrol 10 min	1	<0,001	0,41	0,99	0,97	1

Tabla 4.5-1. Comparaciones por grupos de la profundidad de penetración del adhesivo (Test ANOVA. Comparación de Scheffe)

Al comparar el área de penetración del adhesivo entre los grupos de estudio (Tabla 4.5-2), se observó que solo existían diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control negativo y el resto de los grupos.

Entre el resto de los grupos de estudio, no hubo diferencias estadísticamente significativas. Es decir, los grupos en los que se esperó una semana o se aplicaron los antioxidantes (tanto el AA como el resveratrol), independientemente del tiempo de aplicación (tanto 5 min como 10 min), lograron resultados equivalentes a los de grupo

control positivo (grupo en el que no se blanquearon los especímenes) en cuanto al área de penetración en dentina.

GRUPO	Control positivo	Control negativo	Adhesión 1 semana después	AA 5 min	AA 10 min	Resveratrol 5 min
Control negativo	0,04					
Adhesión 1 semana después	0,83	<0,001				
AA 5 min	1	<0,001	0,53			
AA 10 min	0,98	<0,001	0,98	0,89		
Resveratrol 5 min	0,97	<0,001	0,03	1	0,37	
Resveratrol 10 min	0,99	<0,001	0,30	1	0,78	1

Tabla 4.5-2. Comparaciones por grupos del área de dentina con penetración del adhesivo (Test ANOVA. Comparación Games-Howell)

Al comparar el perímetro de penetración del adhesivo entre los grupos de estudio (Tabla 4.5-3), se observó que solo existían diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control negativo y el resto de los grupos.

Entre el resto de los grupos de estudio, no hubo diferencias estadísticamente significativas. Es decir, los grupos en los que se esperó una semana o se aplicaron los antioxidantes (tanto el AA como el resveratrol), independientemente del tiempo de aplicación (tanto 5 min como 10 min), lograron resultados equivalentes a los de grupo control positivo (grupo en el que no se blanquearon los especímenes) en cuanto al perímetro de penetración en dentina.

GRUPO	Control positivo	Control negativo	Adhesión 1 semana después	AA 5 min	AA 10 min	Resveratrol 5 min
Control Negativo	<0,001					
Adhesión 1 semana después	0,03	<0,001				
AA 5 min	0,05	<0,001	0,60			
AA 10 min	0,04	<0,001	0,64	0,88		
Resveratrol 5 min	0,07	<0,001	0,30	0,92	0,62	
Resveratrol 10 min	0,08	<0,001	0,67	0,92	0,90	0,75

Tabla 4.5-3. Comparaciones por grupos del perímetro con penetración del adhesivo (Test U de Mann-Whitney)

4.6 Resultados gráficos obtenidos a través del microscopio confocal láser

A continuación, se muestran una serie de imágenes pertenecientes a cada grupo de estudio:

4.6.1 Grupo 1: control positivo

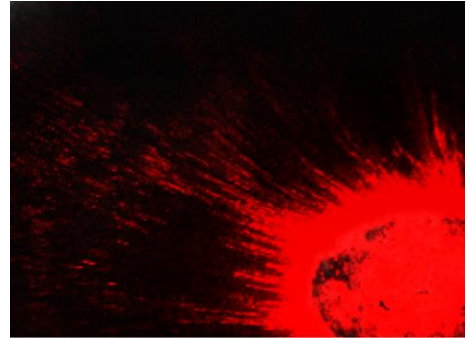
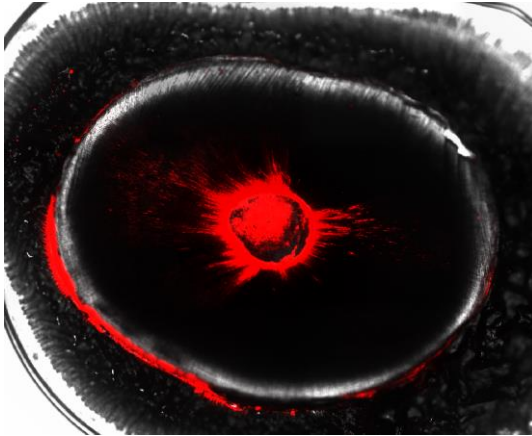


Imagen 4.6.1-1. Detalle del espécimen 1.1: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

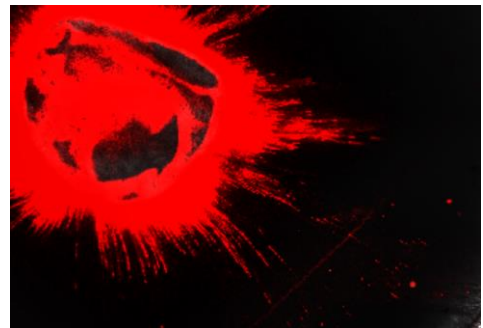
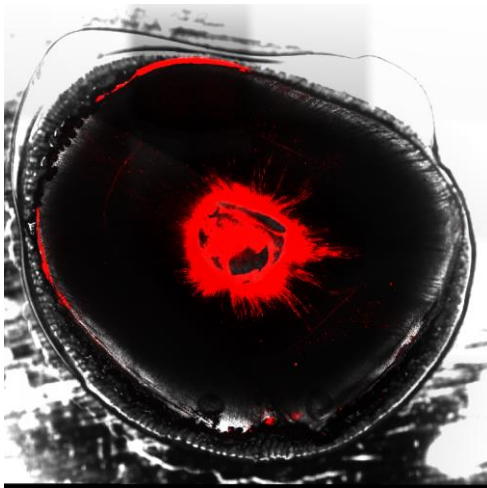


Imagen 4.6.1-2. Detalle del espécimen 1.2: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

4.6.2 Grupo2: control negativo

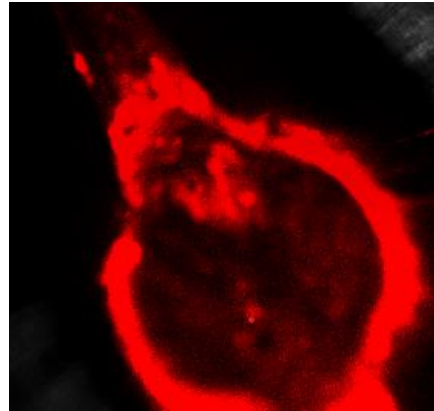


Imagen 4.6.2-1. Detalle del espécimen 2.1: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

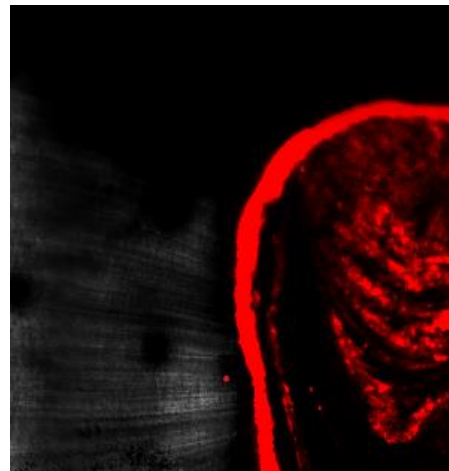
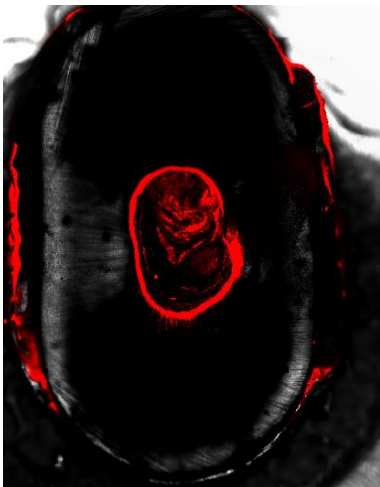


Imagen 4.6.2-2. Detalle del espécimen 2.2: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

4.6.3 Grupo 3: Adhesión una semana tras el blanqueamiento

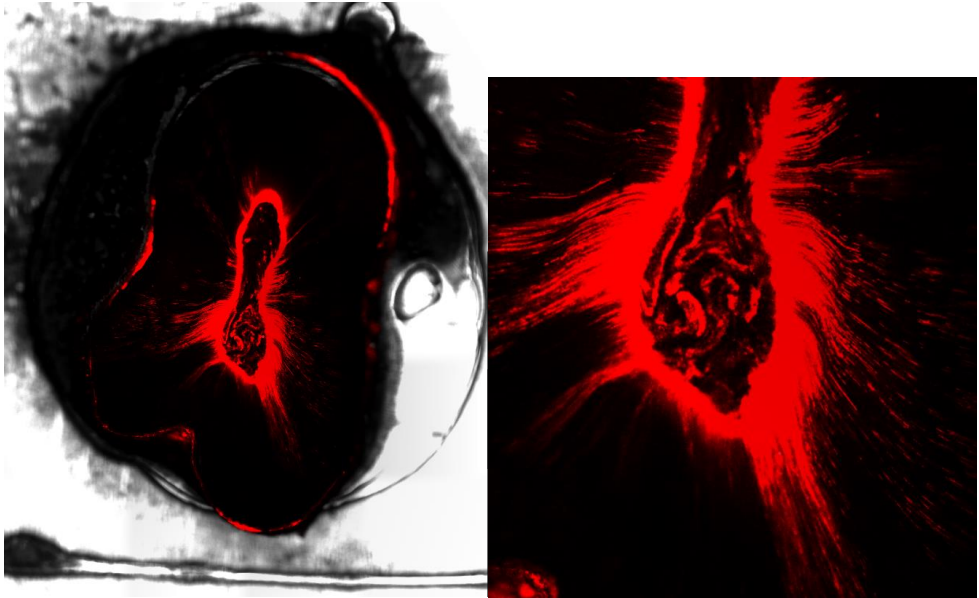


Imagen 4.6.3-1. Detalle del espécimen 3.1: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

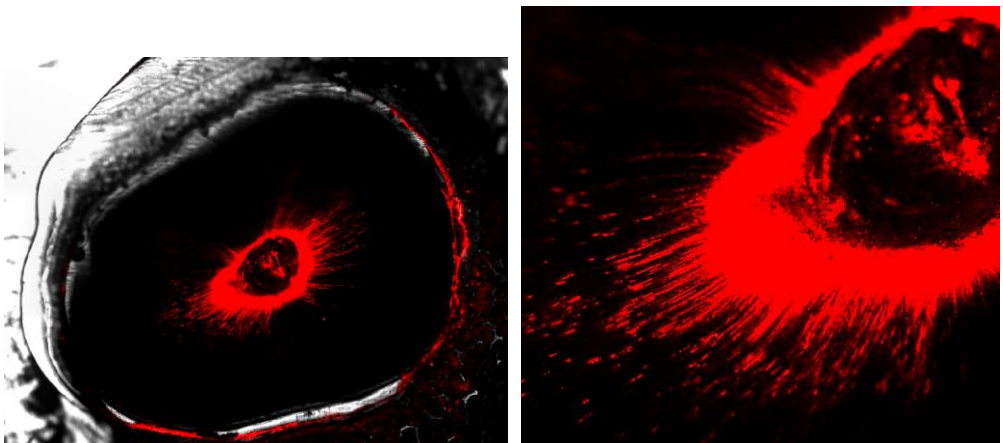


Imagen 4.6.3-2. Detalle del espécimen 3.2: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

4.6.4 Grupo 4: Aplicación de AA durante 5 min

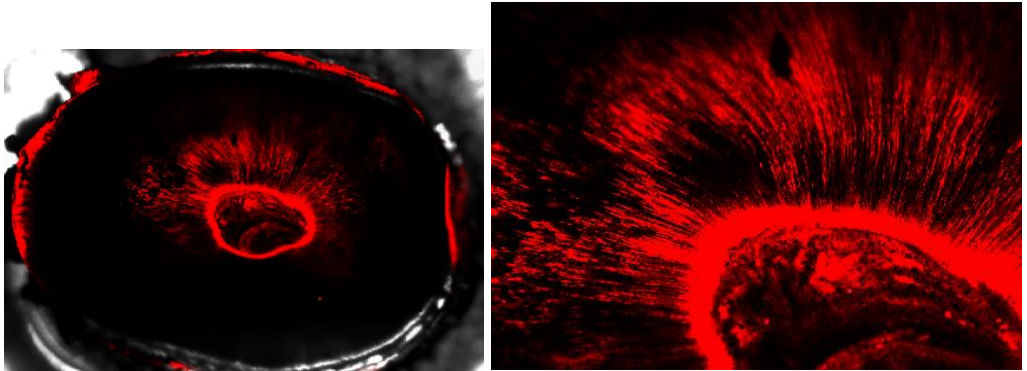


Imagen 4.6.4-1. Detalle del espécimen 4.14: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

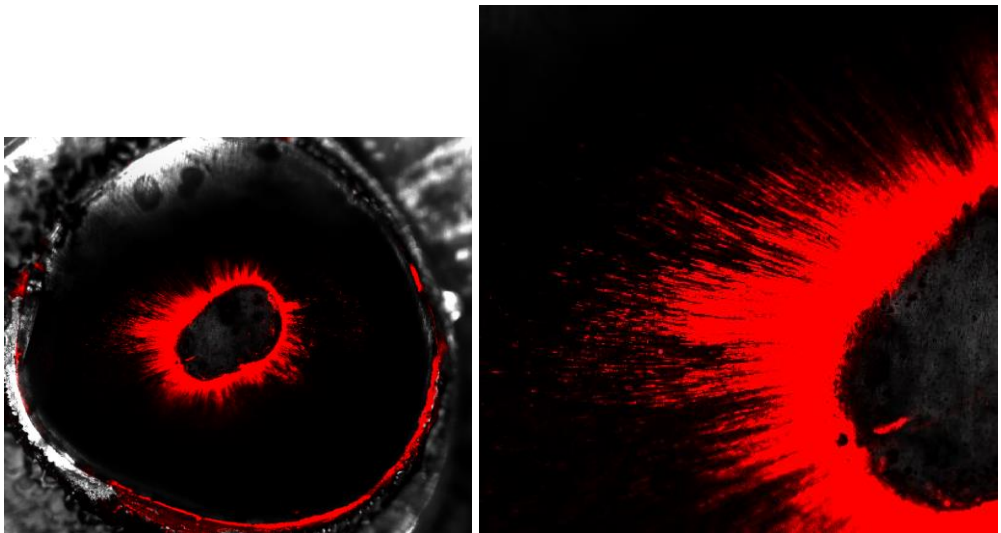


Imagen 4.6.4-2. Detalle del espécimen 4.18: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

4.6.5 Grupo 5: Aplicación de AA durante 10 minutos

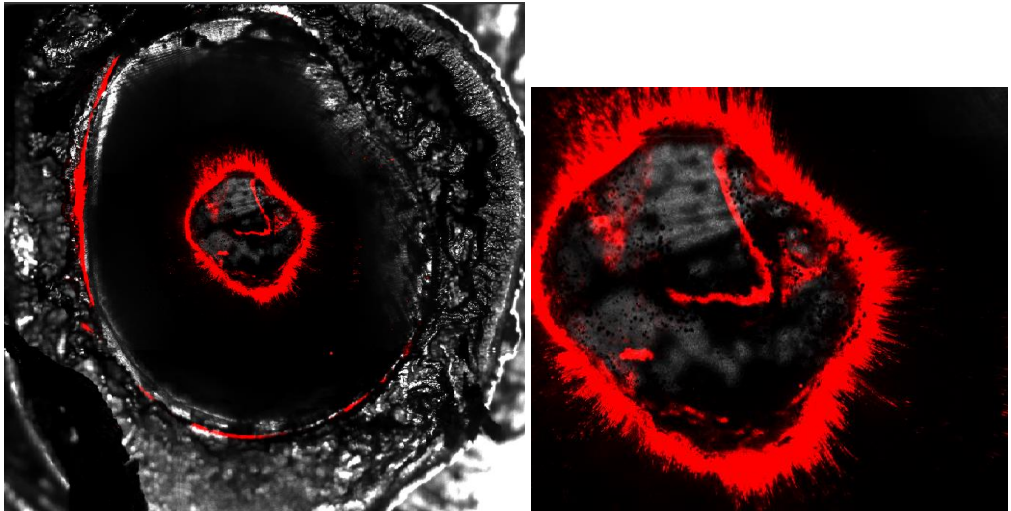


Imagen 4.6.5-1. Detalle del espécimen 5.7: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

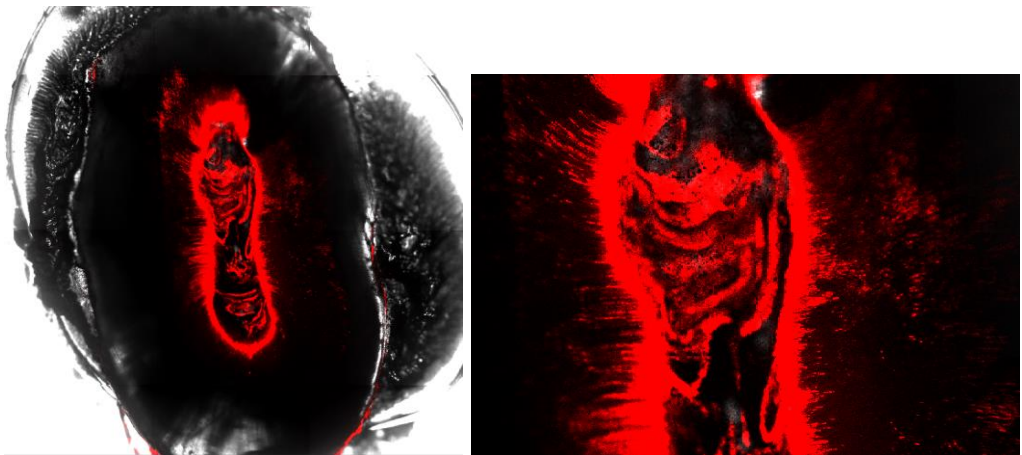


Imagen 4.6.5-2. Detalle del espécimen 5.13: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

4.6.6 Grupo 6: Aplicación de resveratrol durante 5 min

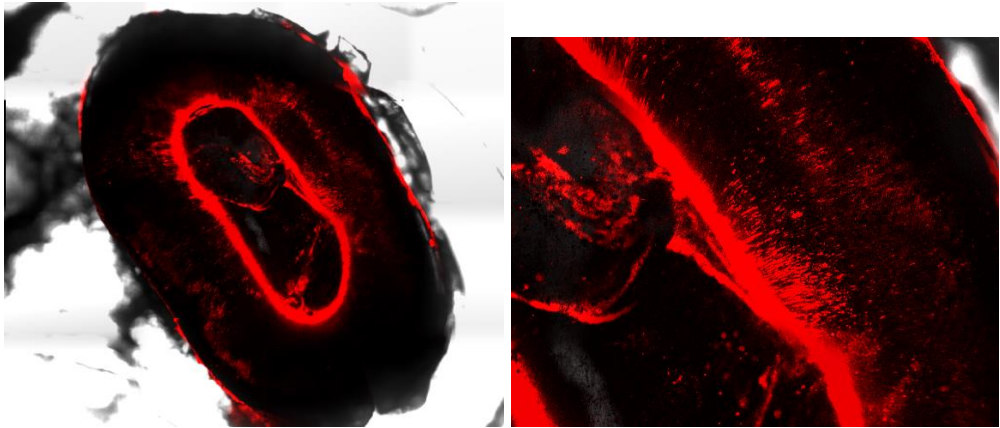


Imagen 4.6.6-1. Detalle del espécimen 6.7: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

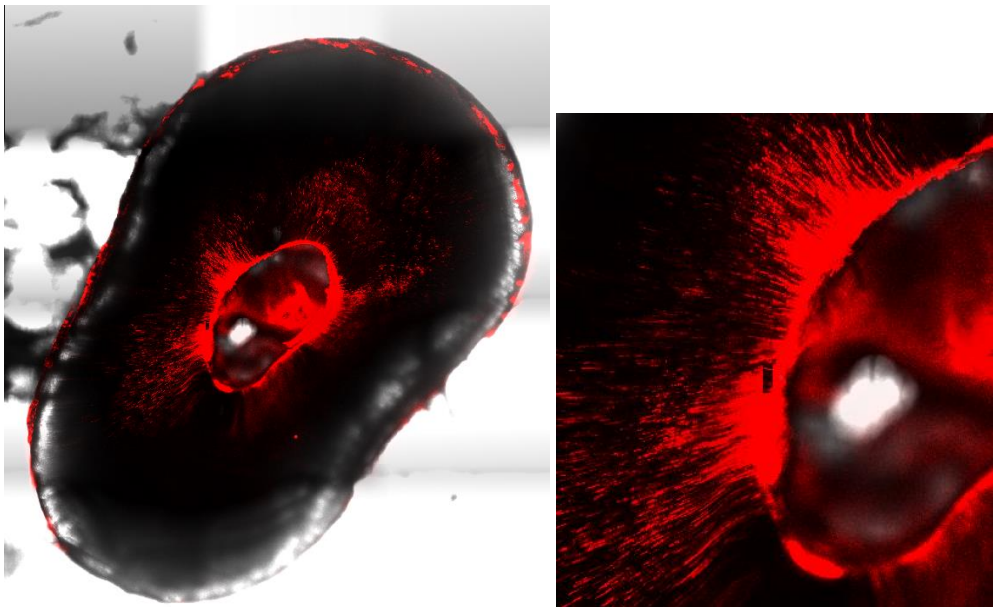


Imagen 4.6.6-2. Detalle del espécimen 6.1: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

4.6.7 Grupo 7: Aplicación de AA durante 10 minutos

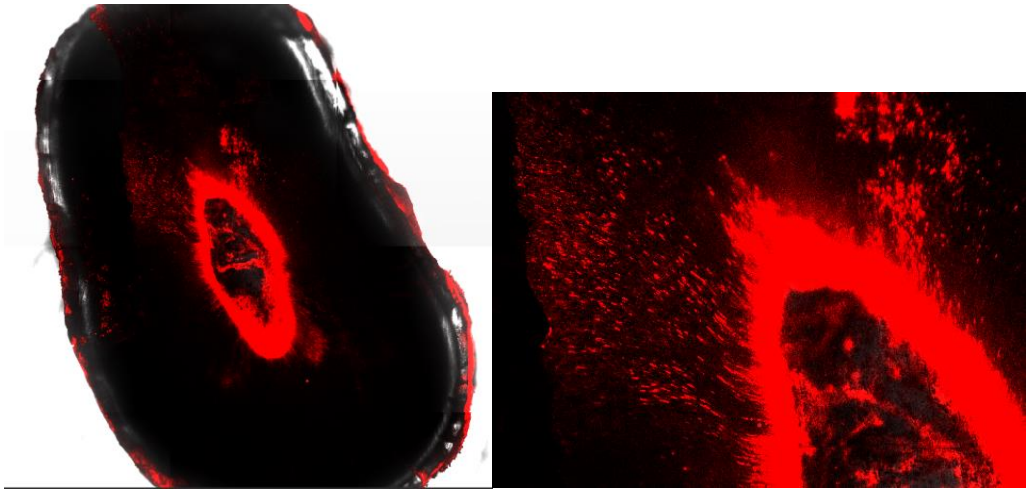


Imagen 4.6.7-1. Detalle del espécimen 7.2: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

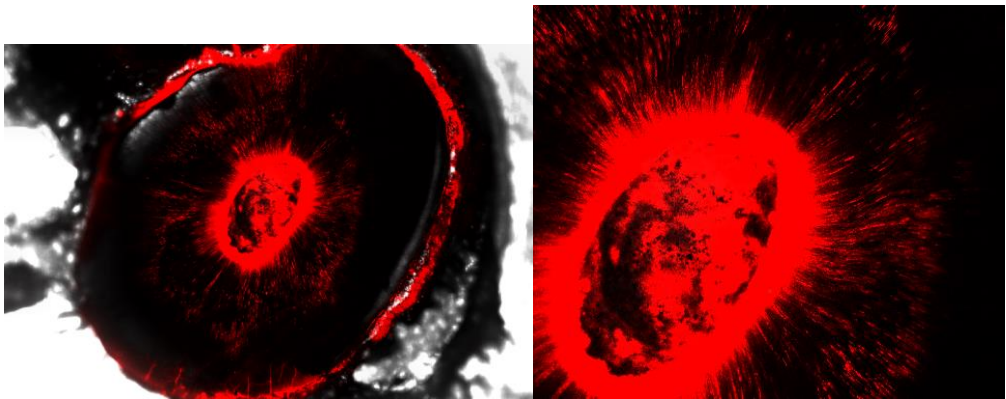


Imagen 4.6.7-2. Detalle del espécimen 7.20: en x50 a la izquierda y x100 en la derecha

DISCUSIÓN

5 DISCUSIÓN

5.1 Discusión de la metodología

5.1.1 Sobre la obtención de la muestra

Para poder realizar este tipo de estudio experimental en el que se pretende investigar acerca de los factores que influyen en la adhesión en el diente después de un tratamiento de conductos, se asume que no existe una pulpa ni las prolongaciones odontoblásticas existentes en un diente vital. Por tanto, sería razonable pensar que simular esta situación con un diente extraído sería bastante adecuado. Así lo apoyan la mayoría de los artículos consultados en los que se estudia el efecto de las diferentes sustancias sobre dentina y cómo afectan éstas a la posterior unión de las resinas compuestas. Así pues, estos artículos consultados coinciden todos en reproducir este tipo de situación *in vitro* en dientes humanos (Morris y cols., 2001; Pamir y cols., 2006; Weston y cols., 2007; Bansal y Tewari, 2008; Celik y cols., 2010; Nassar y cols., 2011; Shrestha y cols., 2013; Khoroushi y Kachuei, 2014; Stevens, 2014; Nagpal y cols., 2015; Dikmen y Tarim, 2018; Kumar y cols., 2019; Sariyilmaz y cols., 2019; Wang y cols., 2019; Bharti y Chandra, 2021) aunque hay un par de autores que prefieren hacerlo sobre dientes bovinos (Furuse y cols., 2014; Pimentel-Corrêa y cols., 2016).

Como se explica en el trabajo de Pimentel-Corrêa y cols., (2016) se utilizaron dientes que no hubiesen permanecido extraoralmente por más de 6 meses. El método de

conservación de los dientes extraídos variaba mucho según los artículos consultados. Encontramos diferentes sustancias químicas como: agua estéril (Bansal y Tewari, 2008); agua destilada (Kumar y cols., 2019; Nagpal y cols., 2013); agua deionizada (Wang y cols., 2019); combinaciones de soluciones de cloramina durante una semana para después trasladar los dientes a agua destilada, optando por una concentración de cloramina al 0,5% (Dikmen y Tarim, 2018) y al 0,2% (Khoroushi y Kachuei, 2014); azida de sodio (NaN_3) al 0,02% junto con 0,9% de cloruro de sodio en agua (Shrestha y cols., 2013, y Weston y cols., 2007); cloramina T trihidrato al 0,5% (Stevens, 2014); o timol en diferentes concentraciones (Bharti y Chandra, 2021, y Pimentel-Corrêa y cols., 2016, eligen una concentración de 0,2% y Nassar y cols., 2011, una al 0,1%). En el presente estudio se decidió utilizar timol al 0,2%, con el aval de la bibliografía, por su capacidad antibacteriana ya que, al ser los dientes extraídos de un medio séptico, se reducían las bacterias remanentes tras la limpieza de los especímenes, por la propia seguridad y para el mantenimiento de estos.

5.1.2 Sobre el tamaño muestral

Al realizar la búsqueda bibliográfica de este trabajo, se encontró gran variedad de trabajos en los que las variables difieren y los resultados, también. Para tratar de obtener resultados lo más fiables posibles, se decidió realizar un tamaño muestral de 112 dientes para así conseguir grupos muestrales con al menos 20 dientes en cada grupo ($n_i=20$). Al consultar la bibliografía en nuestro trabajo de revisión sistemática

(Gascón y cols., 2023), se vio que la mayoría de los 18 estudios consultados empleaban 10 o menos especímenes en sus grupos de estudio ($n_i \leq 10$), exceptuando a 4 estudios (Bansal y Tewari, 2008, cuyo $n_i = 12$; Khoroushi y Saneie, 2012 y Nagpal y cols., 2007, con $n_i = 15$; y Sariyilmaz y cols., 2019, con $n_i = 30$) y, tras el análisis del riesgo de sesgo, se concluyó que solo dos de estos 18 estudios eran considerados como estudios con riesgo de sesgo bajo, siendo esto uno de los factores que influyeron en el análisis.

Al consultar el artículo de revisión sistemática de Attin y cols. (2004) sobre blanqueamiento y fuerza de unión al esmalte, y consultar sus criterios para la clasificación de sus artículos según su riesgo de sesgo, se observó que, pese a que estos incluyen menos factores a la hora de decidir el riesgo de sus artículos, acumulan más artículos con un bajo riesgo de sesgo. Al consultar su tamaño muestral, se comprobó que estos ya aumentaban y se situaban en un tamaño muestra del $n_i \geq 15$ (Patusco y cols., 2009, con 15; Yadav y cols., 2015, y Kunjappan y cols., 2013, con 20; y Akin y cols., 2013 con 30), lo cual ratificó la decisión de crear grupos de estudio con un tamaño muestral de 20 especímenes cada uno.

5.1.3 Sobre la preparación endodóntica

Al realizar la búsqueda bibliográfica acerca de la influencia del NaOCl (y otros irrigantes) junto con el del PH utilizado para blanquear los dientes endodonciados, se encontraron solo tres artículos que combinaban ambos protocolos clínicos (Whang y

Shin, 2015; Fernandes y cols., 2016; Haruyama y cols., 2016): utilizar un PH para blanquear en el interior de la cámara pulpar, es decir, sobre dentina. Pero, al leer en profundidad los artículos, estos no sometían previamente esta dentina a los irrigantes utilizados habitualmente en Endodoncia. Así que se realizó una búsqueda paralela en la que simplemente se estudiase el efecto de los irrigantes utilizados en Endodoncia sobre la dentina intracameral. Al realizarla, pudimos comprobar qué tipo de irrigantes se solían utilizar para simular el tratamiento endodóntico, trabajos que se resumen a continuación.

Algunas investigaciones estudian el efecto del NaOCl por sí solo en diferentes concentraciones y en diferentes tiempos. Las concentraciones del hipoclorito rondan alrededor del 5% y con tiempos de una media de 10 min. Celik y cols. (2010) y Furuse y cols. (2014) utilizan NaOCl al 5,25% durante 10 min; Wang y cols. (2019), misma concentración y 20 min; Morris y cols. (2001), al 5% durante 15–20 min; y Weston y cols. (2007) al 5,25% NaOCl durante 15-20 min. Otros autores rebajan la concentración a 2,5% durante 1 min (Khoroushi y Kachuei, 2014); a 3% NaOCl, durante 2 min (Nagpal y cols., 2007) y al 1% durante 10 min (Nagpal y cols., 2013); y otros la aumentan al 6% durante 20 min (Stevens, 2014).

Algunos estudios combinaron el uso del NaOCl con EDTA (Bansal y Tewari.,2008; Nagpal y cols.,2013; Pimentel-Corrêa y cols., 2016; Bharti y Chandra, 2021). Bansal y Tewari (2008) irrigan con 5 ml de NaOCl al 5,25% seguido de un lavado de 5 ml de EDTA

al 17%, y una irrigación final de NaOCl al 5,25%. Bharti y Chandra (2021) y Pimentel-Corrêa y cols. (2016) optan por el mismo protocolo de irrigación combinando NaOCl al 5,25% durante 30 min, seguidos de EDTA al 17% durante 3 min y un lavado final de NaOCl al 5,25% durante 1 min. Nagpal y cols. (2013) lo combinan de diferente forma, utilizando NaOCl al 1% durante 10 min seguido de EDTA al 17% durante 1 min.

En el presente estudio se reprodujo la técnica que pareció más fidedigna a nuestro protocolo diario de irrigación utilizando una combinación del hipoclorito y EDTA y no exclusivamente hipoclorito. Por tanto, se decidió utilizar 20 ml de NaOCl al 6% durante 10 min, seguido de un lavado de 3 ml de suero fisiológico, otra irrigación de 5 ml de EDTA al 17% y un lavado final de 3 ml de suero fisiológico; situando así las condiciones entre los parámetros anteriormente descritos.

5.1.4 Sobre la técnica de blanqueamiento

De entre los estudios consultados al realizar nuestra búsqueda bibliográfica acerca de las técnicas de blanqueamiento y cómo influyen posteriormente sobre la unión de los materiales que van a utilizarse para restaurar el diente, cabe resaltar los que se centraron en aplicar los agentes blanqueantes sobre dentina y estudiaron posteriormente en este sustrato sus efectos. Estos artículos (Feiz y cols., 2011; Khoroushi y Saneie, 2012; Briso y cols., 2014; Hansen y cols., 2014; Yoon y cols., 2014; Whang y Shin, 2015; Omrani y cols., 2016; Trindade y cols., 2016; y Jung y cols., 2017)

estudian el efecto del agente blanqueante sobre dentina y utilizan productos como el PH (Briso y cols. -2014- utilizan PH al 35%, así como Feiz y cols., 2011, Hansen y cols., 2014, y Trindade y cols., 2016; Omrani y cols., 2016, aumentan la concentración al 38% y Jung y cols., 2017, la bajan al 30%), el PC (Briso y cols. 2014, utilizan también el PC al 10%; Khoroushi y Saneie, 2012, al 20%; y Whang y Shin, 2015, al 15%) y el PS (únicamente Yoon y cols., 2014, aplican PS al 10%). Es decir, la mayoría de los estudios utilizan PH en altas concentraciones dentro de la cámara pulpar.

Se optó, pues, por un procedimiento de blanqueamiento con PH al 35% (Perfect Bleach Office+, Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania), siguiendo las indicaciones del fabricante en todo momento. Por ello, el producto de blanqueamiento escogido, una vez mezclado, se introdujo en el interior del diente hasta cubrir su capacidad y se cubrió el diente en su parte coronal, tal como indicaba el fabricante. Se dejó 15 min actuando y se repitió dos veces más, con un total de 3 veces, sin realizar una activación con luz (como indica el fabricante si se quiere acelerar el proceso) ya que ésta era la intención.

5.1.5 Sobre el protocolo de adhesión

A lo largo de los últimos años, los sistemas adhesivos se han modificado mucho, pasando por las diferentes generaciones de adhesivos. En la actualidad, parece que impera la modalidad de los sistemas adhesivos de 7ª generación. Una de las mejoras incorporadas a estos adhesivos es que son de una sola botella, simplificando mucho la

técnica, por otra parte, son menos sensibles a la cantidad de humedad residual en la superficie de la preparación y destaca su excelente adhesión a esmalte y dentina. Es por esto por lo que se eligió un adhesivo autograbante de séptima generación (Futurabond M+, Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania), al igual que los estudios de Khoroushi y cols., 2010; Khoroushi y Saneie, 2012; Abraham y cols., 2013; Güler y cols., 2013, Hansen y cols., 2014, Abed Kahnemooyi y cols., 2014; Trindade y cols., 2016, y Jung y cols., 2017.

Además, en la mayoría de los trabajos de investigación (Dabas y Patil, 2011; Danesh-Sani y Esmaili, 2011; Feiz y cols., 2011; Khamverdi y cols., 2013; Berger y cols., 2013; Hansen y cols., 2014; Briso y cols., 2014; Kadiyala y cols., 2015; Yadav y cols., 2015; Alencar y cols., 2016; De Carvalho y cols., 2016; Jung y cols., 2017; Boruziniat y cols., 2018; Kavitha y cols., 2018; y Keni y cols., 2018) se utiliza en su protocolo de adhesión un solo tipo de sistema adhesivo, para no influir/afectar en los resultados de los agentes antioxidantes y capacidad para restaurar la adhesión.

En cuanto a esperar 7 días para completar una terapia adhesiva, el presente estudio se basa en los artículos de Da Silva y cols. (2007), Arumugam y cols. (2014), Anil y cols. (2015) y Alencar y cols. (2016) que aseguran que al esperar una semana se igualan a los grupos control en cuanto a los resultados restauradores.

5.1.6 Sobre el tipo de antioxidante

A la hora de elegir el antioxidante, se debía usar el ácido ascórbico ya que se había utilizado como *gold standard* en muchos estudios (ver [Tabla 1.3-2](#)). El porcentaje utilizado mayoritariamente era el del 10% y durante 10 min. Aplicar durante 10 min un producto en la boca, mientras el/la paciente espera, puede resultar un proceso excesivamente largo, cuando además se ha pasado previamente por un proceso de blanqueamiento de 45 min. Por ello, se pensó en experimentar con la aplicación de 5 min. Se había estudiado previamente en 3 estudios (Hansen y cols., 2014; Türkmen y cols., 2016 y Jung y cols., 2017) pero con resultados contradictorios (Hansen y cols., 2014, comprobaron que era mejor esperar una semana mientras que los otros dos aseguraban que la aplicación del antioxidante durante 5 min era igual de efectivo que esperar una semana), así pues, se decidió corroborarlo.

Además, se comparó el ácido ascórbico con otro antioxidante poco conocido pero muy utilizado en restauración y de fácil obtención como es el resveratrol. El resveratrol es un compuesto químico que se encuentra en varias plantas, incluyendo la piel de las uvas, arándanos, frambuesas y moras. Es un fenol natural y una fitoalexina que se produce de manera natural en las plantas como respuesta a una lesión o cuando se encuentran bajo el ataque de un patógeno y posee propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antivirales y protectoras.

Sobre la forma de presentación de los antioxidantes, se dice poco en los estudios. En nuestro caso, se nos preparó un compuesto farmacológico de ácido ascórbico en crema, mientras que el resveratrol se preparó en solución. La aplicación en solución es mucho más sencilla, se aplicó con un microcepillo y penetraba fácilmente en el interior de la cámara pulpar. La crema, en cambio, fue mucho más engorrosa de aplicar por su unión al instrumento aplicador (se usó una espátula doble de boca). A continuación, con el microcepillo se presionó en la profundidad de la cámara pulpar. Esta característica podría condicionar (aunque las diferencias entre los grupos no sean estadísticamente significativas) que los resultados para el grupo del resveratrol sean un poco superiores que los del grupo del ácido ascórbico.

5.1.7 Sobre el método de observación

Entre los métodos empleados para examinar la unión de los materiales adhesivos a dentina encontramos estudios que se basan en tests de fuerza (Weston y cols., 2007; Nassar y cols., 2011; Shrestha y cols., 2013; Stevens, 2014; Dikmen y Tarim, 2018; Kumar y cols., 2019; Sariyilmaz y cols., 2019; Wang y cols., 2019; y Bharti y Chandra, 2021), métodos de observación (Morris y cols., 2001; Pamir y cols., 2006; Nagpal y cols., 2007; Bansal y Tewari., 2008; Nagpal y cols., 2013; y Furuse y cols., 2014) o ambos (Celik y cols., 2010; Khoroushi y Kachuei, 2014 y Pimentel-Corrêa y cols., 2016).

Pamir y cols. (2006) y Bansal y Tewari (2008) utilizaron un método de penetración de un tinte (azul de metileno) y posterior observación con un microscopio óptico con una magnificación de x4, tras lo cual, un/a operador/a realizó unas valoraciones subjetivas de la penetración del tinte. Morris y cols. (2001), Furuse y cols. (2014) y Shamsedin y cols. (2017) analizaron bajo estereomicroscopio los fallos con una magnificación del x18 o x20.

Nagpal y cols. (2007), Celik y cols. (2010), Nagpal y cols. (2013), Khoroushi y Kachuei (2014) y Pimentel-Corrêa y cols. también utilizaron métodos de observación, pero con microscopía electrónica.

Diversos estudios han utilizado la microscopía confocal para el estudio de la capa híbrida y la observación de la interfase dentina-restauración (Sauro y cols., 2008; Rashid, 2014; y Dávila-Sánchez y cols., 2021). Es cierto que, en comparación a las imágenes obtenidas con la microscopía electrónica, éstas pueden considerarse inferiores, pero son muy aptas para estudios de superficie (Nawrocka y cols., 2021).

Tedesco y su grupo de investigación (2018) realizaron un estudio en el que trataban de comparar la eficacia de ambas técnicas (microscopía electrónica de barrido y confocal) a la hora de analizar la interfase adhesiva de los selladores en dentina y concluyeron que ambas técnicas de observación son muy buenas y obtienen resultados similares. Este equipo mantiene que con la microscopía confocal se observa

mejor la profundidad a la que penetra el adhesivo y la cantidad de prolongaciones adhesivas en los túbulos dentinarios, en comparación con las imágenes obtenidas con la microscopia electrónica de barrido. Estos autores explican que, en el proceso de preparación de los especímenes, la técnica de confocal no requiere un proceso de fijación, ni de desmineralización y desproteínización como sí utiliza la técnica electrónica, que puede producir daños en la superficie dentinaria.

De Oliveira y cols. (2010) y Jardine y cols. (2016) y también se expresan en este sentido y añaden que los especímenes observados con el microscopio electrónico, al requerir procesamiento a través de una máquina de vacío y ser sometidos a altas presiones, pueden presentar microgrietas en dentina y se generan más artefactos en las imágenes. Estos autores explican que, la técnica con microscopía confocal, permite una visualización de cortes de dentina de mayor grosor ya que reconstruye la imagen de diferentes planos para conseguir una imagen final, mientras que en la electrónica sólo puede verse de un plano. De Oliveira y cols. (2010) concluyen que la morfología de la capa híbrida está mejor preservada con la técnica de microscopia confocal que cuando se analiza en otras técnicas.

5.2 Discusión de los resultados

5.2.1 Sobre el efecto sinérgico del hipoclorito y el agente blanqueante

Es difícil comparar resultados de la presente tesis con los de otros estudios que realizaran el mismo protocolo de irrigación con hipoclorito y EDTA y posterior blanqueamiento con PH porque, hasta donde se ha buscado, no los hay. Los estudios de adhesión en dentina tras el blanqueamiento son minoritarios y en ninguno se aplica una combinación de los irrigantes utilizados en Endodoncia y agentes blanqueantes, por ello se decidió, con este trabajo, que debía indagarse más en el tema y cubrir el vacío existente. Respecto a los estudios de adhesión en dentina tras el blanqueamiento (Pamir y cols., 2006; Feiz y cols., 2011; Khoroushi y Saneie, 2012; Briso y cols., 2014; Hansen y cols., 2014; Yoon y cols., 2014; Fernandes y cols., 2015; Whang y Shin, 2015; Haruyama y cols., 2016; Omrani y cols., 2016; Trindade y cols., 2016; y Jung y cols., 2017), todos coinciden en que existe un deterioro importante en la misma, así como en los estudios de adhesión en dentina tras el tratamiento con NaOCl (Nikaido y cols., 1999; Frankenberger y cols., 2000; Perdigão y cols., 2000; Ishizuka y cols., 2001; Morris y cols., 2001; Uceda-Gomez y cols., 2003; Erdemir y cols., 2004; Pimenta y cols., 2004; Soeno y cols., 2004; Vongphan y cols., 2005; Saboia y cols., 2008; Uceda-Gomez y cols., 2007; Stevens, 2014; y Gascón y cols., 2023), con lo cual era previsible el resultado obtenido: que el efecto sinérgico del hipoclorito (y del EDTA) junto con el del PH (grupo

control negativo) iba a resultar en un empeoramiento de la unión entre el sistema adhesivo y la dentina.

5.2.2 Sobre el uso de antioxidantes

El uso de los antioxidantes mejora de manera sustancial la adhesión en dentina tras el blanqueamiento en dientes no vitales. Se coincide con muchos artículos consultados; tanto los que estudiaron los antioxidantes para revertir el efecto del hipoclorito (Morris y cols., 2001; Pamir y cols., 2006; Weston y cols., 2007; Bansal y Tewari, 2008; Celik y cols., 2010; Nassar y cols., 2011; Shrestha y cols., 2013; Furuse y cols., 2014; Khoroushi y Kachuei, 2014; Nagpal y cols., 2015; Pimentel -Corrêa y cols., 2016; Dikmen y Tarim, 2018; Sariyilmaz y cols., 2019; Wang y cols., 2019; Bharti y Chandra, 2021), como los que los estudiaron para revertir el efecto de los agentes blanqueantes (Khoroushi y cols., 2010; Uysal y cols., 2010; Mazaheri y cols., 2011; Danesh-Sani y Esmaili, 2011; Khoroushi y Saneie, 2012; Khosravanifard y cols., 2012; Güler y cols., 2013; Kunjappan y cols., 2013; Miranda y cols., 2013; Briso y cols., 2014; Abed Kahnemooyi y cols., 2014; Yoon y cols., 2014; Anil y cols., 2015; Omrani y cols., 2016; Trindade y cols., 2016; Jung y cols., 2017; Boruziniat y cols., 2018; Alrafaa y cols., 2019; Aristizábal y cols., 2020; y Ghaleb y cols., 2020); ambos, en conclusión, agentes oxidantes.

Se han estudiado una gran diversidad de agentes antioxidantes (ver [Tabla 1.3-5](#)) en los que la mayoría aportan buenos resultados (ver [Tabla 1.3-2](#)). El uso del ácido ascórbico ya había sido probado con anterioridad en variadas concentraciones y tiempos diversos (ver [Tabla 1.3-2](#)). En este estudio lo empleamos como *gold standard* (Whang y Shin, 2015) y sirvió para comparar el efecto de otro antioxidante menos conocido y estudiado, como es el resveratrol. Y, en base a los resultados obtenidos para el ácido ascórbico, puede deducirse que el resveratrol es un antioxidante igualmente eficaz.

5.2.3 Sobre el tiempo de aplicación de los antioxidantes

Había sido probado que el ácido ascórbico al 10% durante 10 min tenía un efecto beneficioso sobre la adhesión en dentina (Uysal y cols., 2010; Danesh-Sani y Esmaili, 2011; Khosravanifard y cols., 2012; Kunjappan y cols., 2013; Güler y cols., 2013; Briso y cols., 2014; Abed Kahnemooyi y cols., 2014; Anil y cols., 2015; Boruziniat y cols., 2018; Alrafaa y cols., 2019; y Ghaleb y cols., 2020) por ello, se redujo el tiempo de aplicación a 5 min y se repitió el mismo procedimiento con el resveratrol.

En el presente estudio se evidenció que ambas aplicaciones (de 5 y 10 min) eran igualmente efectivas para revertir el efecto sobre la adhesión, coincidiendo así con los dos estudios de Türkmen y cols. (2016) y Jung y cols. (2017), y tanto para el ácido ascórbico, como para el resveratrol.

5.2.4 Sobre el modo de presentación de los antioxidantes

Se habla poco de la presentación de los antioxidantes. Los resultados obtenidos en el presente estudio con el resveratrol fueron superiores a los del ácido ascórbico, aunque no significativos. Esto podría relacionarse con el método de presentación del ácido ascórbico que fue en crema (mucho más engorroso de aplicar en el interior de la cámara pulpar, como se ha explicado), frente al del resveratrol, en solución, de fácil difusión en la cámara pulpar.

5.2.5 Sobre los métodos de análisis de las imágenes

En esta tesis, se optó por analizar la penetración del adhesivo en todo el corte de dentina tras evaluar el estudio de Bitter y cols. (2004) y de Tedesco y cols. (2018). Estos dos estudios también optaron por métodos de observación de la dentina con microscopía confocal. Bitter y cols. (2004) evaluaron la interfase resina-dentina dividiendo el espécimen en cuartos y midiendo la profundidad de penetración de la resina exclusivamente en cuatro puntos. Tedesco y cols. (2018) también dividieron el corte de dentina en cuartos y visualizaron la penetración de la resina exclusivamente en estos 4 puntos, pero, en este caso, realizaron una valoración subjetiva de la interfase decidiendo si la capa era continua y homogénea o si contenía vacíos. Tras esta decisión, asignaron una valoración numérica al espécimen y, con ésta, extrajeron los resultados. Tras el análisis de estos estudios, se consideraron estas valoraciones un

poco incompletas y subjetivas por lo que se optó por medir la penetración del adhesivo en todo el corte de dentina. Así pues, en el presente estudio, se realizaron mediciones objetivas y más representativas al calcular la longitud del adhesivo en el túbulo dentinario, así como el perímetro de ocupación del adhesivo en dentina y el área total de ocupación del adhesivo en el corte de dentina.

Jardine y cols. (2016) también realizaron la medición de la máxima penetración de adhesivo en dentina trazando una línea recta. Estos autores opinan que, como esta línea no es homogénea en todo su trayecto, la máxima penetración no debería ser representativa de una óptima unión. Insisten en la necesidad de realizar un porcentaje de relleno, es decir, medir la penetración de adhesivo sobre el total de dentina analizada.

En la presente tesis se determinó, además de la máxima penetración del adhesivo en dentina, el perímetro de penetración del adhesivo y el área total de penetración en porcentaje (medida original en este sentido, ya que no ha sido mostrada en otros trabajos de investigación similares y que complementa la información), mucho más demostrativa y fácilmente cuantificable. Lohbauer y cols. (2008), observaron con microscopía confocal el grosor de la unión resina-dentina, así como la longitud de penetración de adhesivo y el perímetro, parámetros muy similares a los de este estudio, pero sin incorporar los términos en porcentajes.

Bitter y cols. (2004) comentan en su estudio que, mientras que las fibras de colágenos estén infiltradas con resina, la capa híbrida no tiene que ser gruesa para ser resistente. Esta afirmación le conferiría mayor importancia a la medición del perímetro penetrado por el adhesivo que a la de la longitud de penetración de adhesivo en dentina para determinar la calidad de la unión de la resina a la dentina.

Por su parte, Briso y cols. (2014) observaron con microscopía electrónica los fallos en la interfase resina-dentina a través de tests de fuerza y midieron el grosor de esta interfase y la longitud de las penetraciones de resina en ciertos puntos seleccionados, pero no en la totalidad de su perímetro.

CONCLUSIONES

6 CONCLUSIONES

El efecto sinérgico de los agentes irrigantes utilizados en Endodoncia (NaOCl al 6% y EDTA al 17%) junto con el del agente blanqueante (PH al 35%) disminuye la capacidad de adhesión de un adhesivo autograbante (Futurabond M+) a la dentina.

Los agentes antioxidantes estudiados (ácido ascórbico y resveratrol) influyen en los efectos sobre la adhesión que ocasionan los agentes irrigantes (NaOCl al 6% y EDTA al 17%) utilizados en Endodoncia en combinación con el agente blanqueante (PH al 35%).

Tanto el ácido ascórbico como el resveratrol revierten los efectos sobre la capacidad de adhesión que producen la aplicación de los agentes irrigantes utilizados en Endodoncia y del agente blanqueante sobre la dentina.

El tiempo de aplicación (5 o 10 min) de ambos agentes antioxidantes analizados no influye en la modificación de la capacidad de adhesión, siendo ambos tiempos suficientes para revertir los efectos indeseables producidos sobre la dentina tras la aplicación de agentes irrigantes y un agente blanqueante.

La observación con microscopia confocal láser de la interfase adhesiva de un adhesivo autograbante (Futurabond M+) a la dentina previamente tratada con hipoclorito, EDTA y blanqueada (grupo control negativo), se observan cambios significativos con la interfase adhesiva de una dentina no tratada (grupo control positivo), así como con la

dentina tratada con irrigantes y blanqueantes en la que se espera una semana (grupo 3) y en la que se aplican antioxidantes (grupos del 4 al 7).

Tras analizar con microscopia confocal láser la interfase adhesiva de un adhesivo autograbante (Futurabond M+) a la dentina no tratada (grupo control positivo), no se ven cambios significativos con la interfase adhesiva de una dentina tratada con hipoclorito, EDTA y blanqueada en la que se espera una semana para adherir (grupo 3), así como la tratada inmediatamente con antioxidantes (grupos del 4 al 7).

Después de analizar con microscopia confocal láser la interfase adhesiva de un adhesivo autograbante (Futurabond M+) a la dentina previamente tratada con hipoclorito y EDTA, blanqueada y posteriormente tratada con antioxidantes (grupos del 4 al 7), no se detectan cambios significativos en cuanto al tipo de antioxidante (ácido ascórbico o resveratrol) empleado, así como en el tiempo (5 o 10 min) de exposición del agente antioxidante a dentina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abe R, Endo T, Shimooka S. Effects of tooth bleaching on shear bond strength of brackets rebonded with a self-etching adhesive system. *Odontology*. 2011 Jan;99(1):83-7.
2. Abed Kahnemooyi M, Ajami AA, Kimyai S, Pournaghiazar F, Savadi Oskoei S, Mhammedi Torkani MA. Effect of Sodium Ascorbate and Delayed Bonding on the Bond Strength of Silorane and Two-step Self-etch Adhesive Systems in Bleached Enamel. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2014 Fall;8(4):210-7.
3. Abraham S, Ghonmode WN, Saujanya KP, Jaju N, Tambe VH, Yawalikar PP. Effect of grape seed extracts on bond strength of bleached enamel using fifth and seventh generation bonding agents. *J Int Oral Health*. 2013 Dec;5(6):101-7.
4. Abuhaimeed TS, Abou Neel EA. Sodium Hypochlorite Irrigation and Its Effect on Bond Strength to Dentin. *Biomed Res Int*. 2017:1930360.
5. Akin M, Ozyilmaz OY, Yavuz T, Aykent F, Basciftci FA. Effect of Nd:YAG laser bleaching and antioxidizing agents on the shear bond strength of brackets. *Photomed Laser Surg*. 2013 Aug;31(8):365-70.

6. Aksakalli S, Ileri Z, Karacam N. Effect of pine bark extract on bond strength of brackets bonded to bleached human tooth enamel. *Acta Odontol Scand*. 2013 Nov;71(6):1555-9.
7. Alencar MS, Bombonatti JF, Maenosono RM, Soares AF, Wang L, Mondelli RF. Effect of Two Antioxidants Agents on Microtensile Bond Strength to Bleached Enamel. *Braz Dent J*. 2016 Sep-Oct;27(5):532-6.
8. Alhasyimi AA, Pudyani PS, Hafizi I. Effect of mangosteen peel extract as an antioxidant agent on the shear bond strength of orthodontic brackets bonded to bleached teeth. *Dental Press J Orthod*. 2018 Sep-Oct;23(5):58-64.
9. Alqahtani MQ. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. *Saudi Dent J*. 2014 Apr;26(2):33-46.
10. Alrafaa AA, Bilal R, Alshahrani I. Does the antioxidant treatment affect the shear bond strength of orthodontic brackets: An in vitro study. *J Pak Med Assoc*. 2019 Jan;69(1):82-6.
11. Andrighetto AR, de Leão Withers EH, Grando KG, Ambrosio AR, Shimizu RH, Melo AC. Assessing the effects of hydrogen peroxide bleaching agent on the

- shear bond strength of orthodontic brackets. Indian J Dent Res. 2016 Jul-Aug;27(4):410-4.
12. Anil M, Ponnappa KC, Nitin M, Ramesh S, Sharanappa K, Nishant A. Effect of 10% Sodium Ascorbate on Shear Bond Strength of Bleached Teeth - An in-vitro Study. J Clin Diagn Res. 2015 Jul;9(7):ZC31-3.
 13. Araujo Fde O, Baratieri LN, Araújo E. In situ study of in-office bleaching procedures using light sources on human enamel microhardness. Oper Dent. 2010 Mar-Apr;35(2):139-46.
 14. Araujo NC, da Costa Soares MU, Nery MM, Sales WS, Gerbi ME. Effect of pH values of two bleaching gels on enamel microhardness. Gen Dent. 2013 Jul;61(4):55-8.
 15. Aristizábal JF, González APP, McNamara JA. Improving shear bond strength of metallic brackets after whitening. Dental Press J Orthod. 2020 Sep-Oct;25(5):38-43.
 16. Arumugam MT, Nesamani R, Kittappa K, Sanjeev K, Sekar M. Effect of various antioxidants on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel: An in vitro study. J Conserv Dent. 2014 Jan;17(1):22-6.

17. Attin T, Hannig C, Wiegand A, Attin R. Effect of bleaching on restorative materials and restorations: a systematic review. *Dent Mater.* 2004 Nov;20(9):852-61.
18. Attin T, Schmidlin PR, Wegehaupt F, Wiegand A. Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: a review. *Dent Mater.* 2009 Feb;25(2):143-57.
19. Bansal, S, Tewari, S. Ex vivo evaluation of dye penetration associated with various dentine bonding agents in conjunction with different irrigation solutions used within the pulp chamber. *Int. Endod. J.* 2008 Nov;41(11):950–7.
20. Barbosa de Souza F, Silva CH, Guenka Palma Dibb R, Sincler Delfino C, Carneiro de Souza Beatrice L. Bonding performance of different adhesive systems to deproteinized dentin: microtensile bond strength and scanning electron microscopy. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005 Oct;75(1):158-67.
21. Basting RT, Rodrigues AL Jr, Serra MC. The effect of 10% carbamide peroxide, carbopol and/or glycerin on enamel and dentin microhardness. *Oper Dent.* 2005 Sep-Oct;30(5):608-16.

22. Basting RT, Rodrigues AL Jr, Serra MC. The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. J Am Dent Assoc. 2003 Oct;134(10):1335-42.
23. Berger SB, De Souza Carreira RP, Guinaldo RD, Lopes MB, Pavan S, Giannini M, Bedran-Russo AK. Can green tea be used to reverse compromised bond strength after bleaching? Eur J Oral Sci. 2013 Aug;121(4):377-81.
24. Bharti R, Chandra A. Comparative Evaluation of Different Antioxidants on Reversal of Microtensile Bond Strength of Composite Resin in Endodontically Treated Tooth Surface. J Clin Diagn Res. 2021 May;15(5):ZC43-6.
25. Bishara SE, Oonsombat C, Soliman MM, Ajlouni R, Laffoon JF. The effect of tooth bleaching on the shear bond strength of orthodontic brackets. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2005 Dec;128(6):755-60.
26. Bitter K, Paris S, Martus P, Schartner R, Kielbassa AM. A Confocal Laser Scanning Microscope investigation of different dental adhesives bonded to root canal dentine. Int Endod J. 2004 Dec;37(12):840-8.

27. Boruziniat A, Atoufi A, Chehreli Z, Akbari M, Gifani M. Effect of Non-Vital Bleaching on the Durability of Resin-Dentin Bond with an Ethanol-Based Etch-And-Rinse Adhesive. *Biomimetics* (Basel). 2018 Nov 6;3(4):35.
28. Briso AL, Rahal V, Sundfeld RH, dos Santos PH, Alexandre RS. Effect of sodium ascorbate on dentin bonding after two bleaching techniques. *Oper Dent*. 2014 Mar-Apr;39(2):195-203.
29. Carey CM. Tooth whitening: what we now know. *J Evid Based Dent Pract*. 2014 Jun;14 Suppl:70-6.
30. Cavalli V, Liporoni PC, Rego MA, Berger SB, Giannini M. Influence of fluoride-containing adhesives and bleaching agents on enamel bond strength. *Braz Oral Res*. 2012 Nov-Dec;26(6):536-42.
31. Cavalli V, Sebold M, Shinohara MS, Pereira PNR, Giannini M. Dentin bond strength and nanoleakage of the adhesive interface after intracoronal bleaching. *Microsc Res Tech*. 2018 Apr;81(4):428-36.
32. Celik, C, Erkut, S, Gulsahi, K, Yamanel, K, Kucukesmen, C. Effect of sodium ascorbate on bond strength of different adhesive systems to NaOCl-treated dentin. *Aust. Endod. J*. 2010 Apr;36(1):12-8.

33. Chauhan V, Kumar P, Sharma P, Shetty D. Effect of different intracoronal bleaching methods on shear bond strength of ceramic brackets bonded to bleached enamel: An in vitro study. *J Orthod Sci*. 2017 Jul-Sep;6(3):86-90.
34. Coceska E, Gjorgievska E, Coleman NJ, Gabric D, Slipper IJ, Stevanovic M, Nicholson JW. Enamel alteration following tooth bleaching and remineralization. *J Microsc*. 2016 Jun;262(3):232-44.
35. Da Silva Machado J, Cândido MS, Sundfeld RH, De Alexandre RS, Cardoso JD, Sundfeld ML. The influence of time interval between bleaching and enamel bonding. *J Esthet Restor Dent*. 2007;19(2):111-8.
36. Dabas D, Patil AC, Uppin VM. Evaluation of the effect of concentration and duration of application of sodium ascorbate hydrogel on the bond strength of composite resin to bleached enamel. *J Conserv Dent*. 2011 Oct;14(4):356-60.
37. Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching--a critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003;14(4):292-304.
38. Danesh-Sani SA, Esmaili M. Effect of 10% sodium ascorbate hydrogel and delayed bonding on shear bond strength of composite resin and resin-

- modified glass ionomer to bleached enamel. J Conserv Dent. 2011 Jul;14(3):241-6.
39. Dávila-Sánchez A, Gutierrez MF, Bermudez JP, Méndez-Bauer L, Pulido C, Kiratzc F, Alegria-Acevedo LF, Farago PV, Loguercio AD, Sauro S, Arrais CAG. Effects of Dentine Pretreatment Solutions Containing Flavonoids on the Resin Polymer-Dentine Interface Created Using a Modern Universal Adhesive. Polymers (Basel). 2021 Apr 2;13(7):1145.
40. Dayem RN. Assessment of the penetration depth of dental adhesives through deproteinized acid-etched dentin using neodymium:yttrium-aluminum-garnet laser and sodium hypochlorite. Lasers Med Sci. 2010 Jan;25(1):17-24.
41. de Almeida AA, Lima DM, Pereira AF, Sousa SF, Alves CM. Influence of delay between dental bleaching with 35% hydrogen peroxide and orthodontic brackets on the bond strength at the enamel/adhesive interface. J Clin Exp Dent. 2019 May;11(5):447-51.
42. De Carvalho HC, Guiraldo RD, Poli-Frederico RC, Maciel SM, Moura SK, Lopes MB, Berger SB. Correlation between antioxidant activity and bonding strength on bleached enamel. Acta Biomater Odontol Scand. 2016 Aug 23;2(1):102-7.

43. de Freitas PM, Basting RT, Rodrigues JA, Serra MC. Effects of two 10% peroxide carbamide bleaching agents on dentin microhardness at different time intervals. *Quintessence Int.* 2002 May;33(5):370-5.
44. de Geus JL, Wambier LM, Boing TF, Loguercio AD, Reis A. At-home Bleaching With 10% vs More Concentrated Carbamide Peroxide Gels: A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent.* 2018 Jul-Aug;43(4):210-22.
45. de Geus JL, Wambier LM, Kossatz S, Loguercio AD, Reis A. At-home vs In-office Bleaching: A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent.* 2016 Jul-Aug;41(4):341-56.
46. de Lima AF, Lessa FC, Gasparoto Mancini MN, Hebling J, de Souza Costa CA, Marchi GM. Cytotoxic effects of different concentrations of a carbamide peroxide bleaching gel on odontoblast-like cells MDPC-23. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009 Aug;90(2):907-12.
47. de Oliveira MT, Arrais CA, Aranha AC, de Paula Eduardo C, Miyake K, Rueggeberg FA, Giannini M. Micromorphology of resin-dentin interfaces using one-bottle etch&rinse and self-etching adhesive systems on laser-treated dentin surfaces: a confocal laser scanning microscope analysis. *Lasers Surg Med.* 2010 Sep;42(7):662-70.

48. Demarco FF, Meireles SS, Sarmiento HR, Dantas RV, Botero T, Tarquinio SB. Erosion and abrasion on dental structures undergoing at-home bleaching. Clin Cosmet Investig Dent. 2011 Jul;18(3):45-52.
49. Dias Ribeiro AP, Sacono NT, Lessa FC, Nogueira I, Coldebella CR, Hebling J, de Souza Costa CA. Cytotoxic effect of a 35% hydrogen peroxide bleaching gel on odontoblast-like MDPC-23 cells. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009 Sep;108(3):458-64.
50. Dikmen, B, Tarim, B. The effect of endodontic irrigants on the microtensile bond strength of different dentin adhesives. Niger. J. Clin. Pract. 2018 Mar;21(3):280–6.
51. Domínguez A, García JA, Costela A, Gómez C. Influence of the light source and bleaching gel on the efficacy of the tooth whitening process. Photomed Laser Surg. 2011 Jan;29(1):53-9.
52. Eggula A, V P, K S D, G N, Shaik N, Fatima M. Reversal of Compromised Bond Strength of Bleached Enamel Using Cranberry Extract as an Antioxidant: an In Vitro Study. Cureus. 2019 Nov 18;11(11):e6188.

53. Elkhatib H, Nakajima M, Hiraishi N, Kitasako Y, Tagami J, Nomura S. Surface pH and bond strength of a self-etching primer/adhesive system to intracoronal dentin after application of hydrogen peroxide bleach with sodium perborate. *Oper Dent*. 2003 Sep-Oct;28(5):591-7.
54. Erdemir A, Ari H, Güngüneş H, Belli S. Effect of medications for root canal treatment on bonding to root canal dentin. *J Endod*. 2004 Feb;30(2):113-6.
55. Feiz A, Khoroushi M, Gheisarifar M. Bond strength of composite resin to bleached dentin: effect of using antioxidant versus buffering agent. *J Dent (Tehran)*. 2011 Spring;8(2):60-6.
56. Feiz A, Mosleh H, Nazeri R. Evaluating the effect of carbamide peroxide bleaching agents on tensile strength of tooth-colored restorative materials after bleaching: a systematic review. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2017;71:156-64.
57. Fernandes HO, Santos LB, Firoozmand LM. Shear bond strength of an orthodontic self-etching adhesive after intracoronal bleaching. *Orthod Craniofac Res*. 2015 May;18(2):117-24.

58. Frankenberger R, Krämer N, Oberschachtsiek H, Petschelt A. Dentin bond strength and marginal adaption after NaOCl pre-treatment. Oper Dent. 2000 Jan-Feb;25(1):40-5.
59. Furuse, AY, Cunha, LF, Baratto, SP, Leonardi, DP, Haragushiku, GA, Gonzaga, CC. Bond strength of fiber-reinforced posts to deproteinized root canal dentin. J. Contemp. Dent. Pract. 2014;15:581–6.
60. Fuss Z, Tsesis I, Lin S. Root resorption--diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors. Dent Traumatol. 2003 Aug;19(4):175-82.
61. Gascón R, Forner L, Llena C. The Effect of Antioxidants on Dentin Bond Strength after Application of Common Endodontic Irrigants: A Systematic Review. Materials (Basel). 2023 Mar;16(6):2260.
62. Ghaleb M, Orsini G, Putignano A, Dabbagh S, Haber G, Hardan L. The Effect of Different Bleaching Protocols, Used with and without Sodium Ascorbate, on Bond Strength between Composite and Enamel. Materials (Basel). 2020 Jun 15;13(12):2710.

63. Gogia H, Taneja S, Kumar M, Soi S. Effect of different antioxidants on reversing compromised resin bond strength after enamel bleaching: An in vitro study. J Conserv Dent. 2018 Jan-Feb;21(1):100-4.
64. Gold SI, Hasselgren G. Peripheral inflammatory root resorption. A review of the literature with case reports. J Clin Periodontol. 1992 Sep;19(8):523-34.
65. Guida A. Mechanism of action of sodium hypochlorite and its effects on dentin. Minerva Stomatol. 2006 Sep;55(9):471-82.
66. Güler E, Gönülol N, Özyılmaz ÖY, Yücel AÇ. Effect of sodium ascorbate on the bond strength of silorane and methacrylate composites after vital bleaching. Braz Oral Res. 2013 Jul-Aug;27(4):299-304.
67. Hansen JR, Frick KJ, Walker MP. Effect of 35% sodium ascorbate treatment on microtensile bond strength after nonvital bleaching. J Endod. 2014 Oct;40(10):1668-70.
68. Harrington GW, Natkin E. External resorption associated with bleaching of pulpless teeth. J Endod. 1979 Nov;5(11):344-8.

69. Haruyama A, Kameyama A, Kato J, Takemoto S, Oda Y, Kawada E, Takahashi T, Furusawa M. Resin Bonding of Self-Etch Adhesives to Bovine Dentin Bleached from Pulp Chamber. *Biomed Res Int*. 2016;2016:1313586.
70. Haywood VB, Al Farawati F. Bleaching update and the future impact on prosthodontics. *Br Dent J*. 2019 May;226(10):753-60.
71. Iandolo A, Pisano M, Buonavoglia A, Giordano F, Amato A, Abdellatif D. Traditional and Recent Root Canal Irrigation Methods and Their Effectiveness: A Review. *Clin Pract*. 2023 Aug 27;13(5):1059-72.
72. Ishizuka T, Kataoka H, Yoshioka T, Suda H, Iwasaki N, Takahashi H, Nishimura F. Effect of NaClO treatment on bonding to root canal dentin using a new evaluation method. *Dent Mater J*. 2001 Mar;20(1):24-33.
73. Jardine AP, Rosa RA, Santini MF, Wagner M, Só MV, Kuga MC, Pereira JR, Kopper PM. The effect of final irrigation on the penetrability of an epoxy resin-based sealer into dentinal tubules: a confocal microscopy study. *Clin Oral Investig*. 2016 Jan;20(1):117-23.
74. Joiner A. Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. *J Dent*. 2007 Dec;35(12):889-96.

75. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. J Dent. 2006 Aug;34(7):412-9.
76. Josic U, Mazzitelli C, Maravic T, Fidler A, Breschi L, Mazzoni A. Biofilm in Endodontics: In Vitro Cultivation Possibilities, Sonic-, Ultrasonic- and Laser-Assisted Removal Techniques and Evaluation of the Cleaning Efficacy. Polymers (Basel). 2022 Mar 25;14(7):1334.
77. Jung KH, Seon EM, Choi AN, Kwon YH, Son SA, Park JK. Time of Application of Sodium Ascorbate on Bonding to Bleached Dentin. Scanning. 2017 Aug;2017:6074253.
78. Jurema ALB, de Souza MY, Torres CRG, Borges AB, Caneppele TMF. Effect of pH on whitening efficacy of 35% hydrogen peroxide and enamel microhardness. J Esthet Restor Dent. 2018 Mar;30(2):39-44.
79. Kadiyala A, Saladi HK, Bollu IP, Burla D, Ballullaya SV, Devalla S, Maroli S, Jayaprakash T. Effect of Different Anti-Oxidants on Shear Bond Strength of Composite Resins to Bleached Human Enamel. J Clin Diagn Res. 2015 Nov;9(11):40-3.

80. Kavitha M, Selvaraj S, Khetarpal A, Raj A, Pasupathy S, Shekar S. Comparative evaluation of superoxide dismutase, alpha-tocopherol, and 10% sodium ascorbate on reversal of shear bond strength of bleached enamel: An in vitro study. *Eur J Dent*. 2016 Jan-Mar;10(1):109-15,
81. Keni S, Nambiar S, Philip P, Shetty S. A comparison of the effect of application of sodium ascorbate and amla (Indian gooseberry) extract on the bond strength of brackets bonded to bleached human enamel: An In vitro study. *Indian J Dent Res*. 2018 Sep-Oct;29(5):663-6,
82. Khamverdi Z, Khadem P, Soltanian A, Azizi M. In-Vitro Evaluation of the Effect of Herbal Antioxidants on Shear Bond Strength of Composite Resin to Bleached Enamel. *J Dent (Tehran)*. 2016 Aug;13(4):244-51.
83. Khamverdi Z, Rezaei-Soufi L, Kasraei S, Ronasi N, Rostami S. Effect of Epigallocatechin Gallate on shear bond strength of composite resin to bleached enamel: an in vitro study. *Restor Dent Endod*. 2013 Nov;38(4):241-7.
84. Khoroushi M, Feiz A, Khodamoradi R. Fracture resistance of endodontically-treated teeth: effect of combination bleaching and an antioxidant. *Oper Dent*. 2010 Sep-Oct;35(5):530-7.

85. Khoroushi M, Najafabadi MA, Feiz A. Effects of Calcium Hypochlorite and Sodium Hypochlorite, as Root Canal Irrigants, on the Bond Strength of Glass Fiber Posts Cemented with Self-Adhesive Resin Cement. *Front Dent*. 2019 May-Jun;16(3):214-23.
86. Khoroushi M, Saneie T. Post-bleaching application of an antioxidant on dentin bond strength of three dental adhesives. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012 Jan;9(1):46-53.
87. Khoroushi, M, Kachuei, M. Pull-out bond strength of a self-adhesive resin cement to NaOCl-treated root dentin: Effect of antioxidizing agents. *Restor. Dent. Endod*. 2014;39: 95–103.
88. Khosravanifard B, Rakhshan V, Araghi S, Parhiz H. Effect of Ascorbic Acid on Shear Bond Strength of Orthodontic Brackets Bonded with Resin-modified Glass-ionomer Cement to Bleached Teeth. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2012 Spring;6(2):59-64.
89. Kılınc Hİ, Aslan T, Kılıç K, Er Ö, Kurt G. Effect of Delayed Bonding and Antioxidant Application on the Bond Strength to Enamel after Internal Bleaching. *J Prosthodont*. 2016 Jul;25(5):386-91.

90. Kimyai S, Oskoe SS, Rafeighi A, Valizadeh H, Ajami AA, Helali ZN. Comparison of the effect of hydrogel and solution forms of sodium ascorbate on orthodontic bracket-enamel shear bond strength immediately after bleaching: an in vitro study. *Indian J Dent Res.* 2010 Jan-Mar;21(1):54-8.
91. Kossatz S, Dalanhil AP, Cunha T, Loguercio A, Reis A. Effect of light activation on tooth sensitivity after in-office bleaching. *Oper Dent.* 2011 May-Jun;36(3):251-7.
92. Kumar PS, Meganathan A, Shriram S, Sampath V, Sekar M. Effect of proanthocyanidin and bamboo salt on the push-out bond strength of an epoxy resin sealer to sodium hypochlorite-treated root dentin: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2019 Mar-Apr;22(2):144-8.
93. Kunjappan S, Kumaar V, Prithiviraj, Vasanthan, Khalid SA, Paul J. The effect of bleaching of teeth on the bond strength of brackets: An in vitro study. *J Pharm Bioallied Sci.* 2013 Jun;5(Suppl 1):17-20.
94. Lima AF, Fonseca FM, Cavalcanti AN, Aguiar FH, Marchi GM. Effect of the diffusion of bleaching agents through enamel on dentin bonding at different depths. *Am J Dent.* 2010 Apr;23(2):113-5.

95. Llena C, Esteve I, Forner L. Effect of Hydrogen and Carbamide Peroxide in Bleaching, Enamel Morphology, and Mineral Composition: In vitro Study. J Contemp Dent Pract. 2017 Jul;18(7):576-82.
96. Llena C, Esteve I, Forner L. Effects of in-office bleaching on human enamel and dentin. Morphological and mineral changes. Ann Anat. 2018 May;217:97-102.
97. Lohbauer U, Nikolaenko SA, Petschelt A, Frankenberger R. Resin tags do not contribute to dentin adhesion in self-etching adhesives. J Adhes Dent. 2008 Feb;10(2):97-103.
98. Low S, Allen EP, Kontogiorgos ED. Reduction in dental hypersensitivity with nano-hydroxyapatite, potassium nitrate, sodium monofluorophosphate and antioxidants. Open Dent J. 2015 Feb 27;(9):92-7
99. Madison S, Walton R. Cervical root resorption following bleaching of endodontically treated teeth. J Endod. 1990 Dec;16(12):570-4.
100. Manimaran VS, Srinivasulu S, Rajesh Ebenezar A, Mahalaxmi S, Srinivasan N. Application of a proanthocyanidin agent to improve the bond strength of

- root dentin treated with sodium hypochlorite. J Conserv Dent. 2011 Jul;14(3):306-8.
101. Manoharan M, Shashibhushan KK, Poornima P, Naik SN, Patil D, Shruthi AS. Effect of newer antioxidants on the bond strength of composite on bleached enamel. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 2016 Oct-Dec;34(4):391-6.
102. Matis BA. Tray whitening: what the evidence shows. Compend Contin Educ Dent. 2003 Apr;24(4):354-62.
103. Mazaheri H, Khoroushi M, Shafiei E, Ghorbanipour R, Majdzade F. Bond strength of composite-resin and resin-modified glass ionomer to bleached enamel: delay bonding versus an antioxidant agent. Indian J Dent Res. 2011 May-Jun;22(3):432-5.
104. Minoux M, Serfaty R. Vital tooth bleaching: biologic adverse effects-a review. Quintessence Int. 2008 Sep;39(8):645-59.
105. Miranda TA, Moura SK, Amorim VH, Terada RS, Pascotto RC. Influence of exposure time to saliva and antioxidant treatment on bond strength to enamel after tooth bleaching: an in situ study. J Appl Oral Sci. 2013 Nov-Dec;21(6):567-74.

106. Mondelli RFL, Gabriel TRCG, Rizzante FAP, Magalhães AC, Bombonatti JFS, Ishikiriyama SK. Do different bleaching protocols affect the enamel microhardness? Eur J Dent. 2015 Jan-Mar;9(1):25-30.
107. Morris MD, Lee KW, Agee KA, Bouillaguet S, Pashley DH. Effects of sodium hypochlorite and RC-prep on bond strengths of resin cement to endodontic surfaces. J Endod. 2001 Dec;27(12):753-7.
108. Mukka PK, Komineni NK, Pola S, Soujanya E, Karne AR, Nenavath B, Shiva S, Vuppunuthula P. An In-vitro Comparative Study of Shear Bond Strength of Composite Resin to Bleached Enamel using three Herbal Antioxidants. J Clin Diagn Res. 2016 Oct;10(10):ZC89-92.
109. Nagpal R, Manuja N, Pandit IK. Adhesive bonding to pulp chamber dentin after different irrigation regimens. J Investig Clin Dent. 2015 Nov;6(4):287-93.
110. Nagpal R, Manuja N, Pandit IK. Effect of proanthocyanidin treatment on the bonding effectiveness of adhesive restorations in pulp chamber. J Clin Pediatr Dent. 2013 Fall;38(1):49-53.

111. Nagpal R, Tewari S, Gupta R. Effect of various surface treatments on the microleakage and ultrastructure of resin-tooth interface. *Oper Dent*. 2007 Jan-Feb;32(1):16-23.
112. Nair R, Bandhe S, Ganorkar OK, Saha S, Sial S, Nair A. A comparative evaluation of the three different antioxidant treatments on the bond strength of composite resin to bleached enamel: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2019 Jan-Feb;22(1):82-6.
113. Nascimento GC, de Miranda CA, Machado SM, Brandão GA, de Almeida HA, Silva CM. Does the time interval after bleaching influence the adhesion of orthodontic brackets? *Korean J Orthod*. 2013 Oct;43(5):242-7.
114. Nassar, M, Awawdeh, L, Jamleh, A, Sadr, A, Tagami, J. Adhesion of Epiphany self-etch sealer to dentin treated with intracanal irrigating solutions. *J. Endod*. 2011, 37: 228–30.
115. Nawrocka A, Piwonski I, Sauro S, Porcelli A, Hardan L, Lukomska-Szymanska M. Traditional Microscopic Techniques Employed in Dental Adhesion Research-Applications and Protocols of Specimen Preparation. *Biosensors (Basel)*. 2021 Oct;11(11):408.

116. Nikaido T, Takano Y, Sasafuchi Y, Burrow MF, Tagami J. Bond strengths to endodontically-treated teeth. *Am J Dent*. 1999 Aug;12(4):177-80.
117. Nima G, Cavalli V, Bacelar-Sá R, Ambrosano GMB, Giannini M. Effects of sodium hypochlorite as dentin deproteinizing agent and aging media on bond strength of two conventional adhesives. *Microsc Res Tech*. 2020 Feb;83(2):186-95.
118. Olmedo DERP, Kury M, Resende BA, Cavalli V. Use of antioxidants to restore bond strength after tooth bleaching with peroxides. *Eur J Oral Sci*. 2021 Apr; 129(2):12773.
119. Omrani LR, Sabouri P, Abbasi M, Ahmadi E, Ghavam M. Shear Bond Strength of Two Types of Glass Ionomer to Bleached Dentin: Effect of Delayed Bonding and Antioxidant Agent. *Open Dent J*. 2016 Dec 30;10:720-27.
120. Ontiveros JC. In-office vital bleaching with adjunct light. *Dent Clin North Am*. 2011 Apr;55(2):241-53.
121. Ozdemir F, Cakan U, Gonul N, Germec Cakan D. Orthodontic bonding to acid- or laser-etched prebleached enamel. *Korean J Orthod*. 2013 Jun;43(3):141-6.

122. Ozelin AA, Guiraldo RD, Carvalho RV, Lopes MB, Berger SB. Effects of green tea application time on bond strength after enamel bleaching. *Braz Dent J*. 2014 Sep-Oct;25(5):399-403.
123. Pamir T, Türkün M, Kaya AD, Sevgican F. Effect of antioxidant on coronal seal of dentin following sodium-hypochlorite and hydrogen-peroxide irrigation. *Am J Dent*. 2006 Dec;19(6):348-52.
124. Patusco VC, Montenegro G, Lenza MA, Alves de Carvalho A. Bond strength of metallic brackets after dental bleaching. *Angle Orthod*. 2009 Jan;79(1):122-6.
125. Perdigão J, Lopes M, Geraldeli S, Lopes GC, García-Godoy F. Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. *Dent Mater*. 2000 Sep;16(5):311-23.
126. Pimenta LA, Amaral CM, Bedran de Castro AK, Ritter AV. Stability of dentin bond strengths using different bonding techniques after 12 months: total-etch, deproteinization and self-etching. *Oper Dent*. 2004 Sep-Oct;29(5):592-8.

127. Pimentel-Corrêa, AC, Cecchin, D, de Almeida, JF, Gomes, BP, Zaia, AA, Ferraz, CC. Sodium Thiosulfate for Recovery of Bond Strength to Dentine Treated with Sodium Hypochlorite. J. Endod. 2016;42:284–8.
128. Pinto CF, Oliveira Rd, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. Braz Oral Res. 2004 Oct-Dec;18(4):306-11.
129. Pioch T, Kobaslija S, Huseinbegović A, Müller K, Dörfer CE. The effect of NaOCl dentin treatment on nanoleakage formation. J Biomed Mater Res. 2001 Sep 15;56(4):578-83.
130. Plotino G, Buono L, Grande NM, Pameijer CH, Somma F. Nonvital tooth bleaching: a review of the literature and clinical procedures. J Endod. 2008 Apr;34(4):394-407.
131. Polydorou O, Wirsching M, Wokewitz M, Hahn P. Three-month evaluation of vital tooth bleaching using light units-a randomized clinical study. Oper Dent. 2013 Jan-Feb;38(1):21-32.

132. Prasansuttiporn T, Nakajima M, Kunawarote S, Foxton RM, Tagami J. Effect of reducing agents on bond strength to NaOCl-treated dentin. *Dent Mater.* 2011 Mar;27(3):229-34.
133. Prati C, Chersoni S, Pashley DH. Effect of removal of surface collagen fibrils on resin-dentin bonding. *Dent Mater.* 1999 Sep;15(5):323-31.
134. Price RB, Sedarous M, Hiltz GS. The pH of tooth-whitening products. *J Can Dent Assoc.* 2000 Sep;66(8):421-6.
135. Pucci CR, Barbosa NR, Bresciani E, Yui KC, Huhtala MF, Barcellos DC, Torres CR. Influence of Dentin Deproteinization on Bonding Degradation: 1-year Results. *J Contemp Dent Pract.* 2016 Dec;17(12):985-9.
136. Rana R, Kaushik M, Sharma R, Reddy P, Mehra N. Comparative evaluation of effects of natural antioxidants on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel. *Indian J Dent Res.* 2019 Jan-Feb;30(1):112-6.
137. Rashid H. Application of confocal laser scanning microscopy in dentistry. *J. Adv. Microsc. Res.* 2014;9:245–52.

138. Ravishanker P, Chaitanya K. In vitro evaluation of the effect of deproteinization on the marginal leakage of resin restorations using three bonding agents. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012 Jul;9(4):452-9.
139. Ravishanker P, Chaitanya K. In vitro evaluation of the effect of deproteinization on the marginal leakage of resin restorations using three bonding agents. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012 Jul;9(4):452-9.
140. Rodrigues JA, Marchi GM, Ambrosano GM, Heymann HO, Pimenta LA. Microhardness evaluation of in situ vital bleaching on human dental enamel using a novel study design. *Dent Mater*. 2005 Nov;21(11):1059-67.
141. Saber SE; El-Askary FS. The outcome of immediate or delayed application of a single-step self-etch adhesive to coronal dentin following the application of different endodontic irrigants. *Eur. J. Dent*. 2009;3:83–9
142. Saboia VP, Nato F, Mazzoni A, Orsini G, Putignano A, Giannini M, Breschi L. Adhesion of a two-step etch-and-rinse adhesive on collagen-depleted dentin. *J Adhes Dent*. 2008 Dec;10(6):419-22.
143. Sariyilmaz E, Sivas Yilmaz Ö, Keskin C, Keleş A. Effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine irrigating solutions and their inactivating agents on the

- push-out bond strength of mineral trioxide aggregate. *Biomed Mater Eng.* 2019;30(3):279-85.
144. Sasaki RT, Arcanjo AJ, Flório FM, Basting RT. Micromorphology and microhardness of enamel after treatment with home-use bleaching agents containing 10% carbamide peroxide and 7.5% hydrogen peroxide. *J Appl Oral Sci.* 2009 Nov-Dec;17(6):611-6.
145. Sauro S, Pashley DH, Mannocci F, Tay FR, Pilecki P, Sherriff M, Watson TF. Micropermeability of current self-etching and etch-and-rinse adhesives bonded to deep dentine: a comparison study using a double-staining/confocal microscopy technique. *Eur J Oral Sci.* 2008 Apr;116(2):184-93.
146. Shahi M, Velugu GR, Choudhary E. Comparative evaluation of the effect of 10%, 20%, and 30% guava seed extract on reversing compromised resin bond strength after enamel bleaching in 120 min, 10 min, and 5 min: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2020 Jan-Feb;23(1):66-70.
147. Shamsedin M, Arash V, Jahromi MB, Moghadamnia AA, Kamel MR, Ezoji F, Bijani A, Kavoli S, Ghasemi T, Ramezani G. Efficacy of quercetin flavonoid in

- recovering the postbleaching bond strength of orthodontic brackets: A preliminary study. *J Orthod Sci.* 2017 Jan-Mar;6(1):16-21.
148. Shannon H, Spencer P, Gross K, Tira D. Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Quintessence Int.* 1993 Jan;24(1):39-44.
149. Sharafeddin F, Farshad F. The Effect of Aloe Vera, Pomegranate Peel, Grape Seed Extract, Green Tea, and Sodium Ascorbate as Antioxidants on the Shear Bond Strength of Composite Resin to Home-bleached Enamel. *J Dent (Shiraz).* 2015 Dec;16(4):296-301.
150. Shrestha D, Wu WC, He QY, Wei X, Ling JQ. Effect of sodium ascorbate on degree of conversion and bond strength of RealSeal SE to sodium hypochlorite treated root dentin. *Dent. Mater. J.* 2013;32:96–100.
151. Singh RD, Ram SM, Shetty O, Chand P, Yadav R. Efficacy of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to prevent stain absorption on freshly bleached enamel: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2010 Apr;13(2):76-9.

152. Siqueira JF Jr, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. *Int Endod J*. 1997 Jul;30(4):279-82.
153. Soeno K, Taira Y, Matsumura H, Atsuta M, Suzuki S. Adhesion of 4-META/MMA-TBB resin to collagen-depleted dentin--effect of conditioner with ascorbic acid/ferric chloride. *Dent Mater J*. 2004 Jun;23(2):100-5.
154. Stevens CD. Immediate shear bond strength of resin cements to sodium hypochlorite-treated dentin. *J Endod*. 2014 Sep;40(9):1459-62.
155. Stoward PJ. A histochemical study of the apparent deamination of proteins by sodium hypochlorite. *Histochemistry*. 1975 Dec;45(3):213-26.
156. Subramonian R, Mathai V, Christaine Angelo JB, Ravi J. Effect of three different antioxidants on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2015 Mar-Apr;18(2):144-8.
157. Sulieman M. An overview of bleaching techniques: I. History, chemistry, safety and legal aspects. *Dent Update*. 2004 Dec;31(10):608-10.

158. Sun L, Liang S, Sa Y, Wang Z, Ma X, Jiang T, Wang Y. Surface alteration of human tooth enamel subjected to acidic and neutral 30% hydrogen peroxide. *J Dent*. 2011 Oct;39(10):686-92.
159. Suneetha R, Pavithra S, Thomas J, Nanga GS, Shiromany A, Shivrayan A. An In Vitro Comparative Study of Shear Bond Strength of Composite Resin to Bleached Enamel using Synthetic and Herbal Antioxidants. *J Int Oral Health*. 2014 Nov-Dec;6(6):77-81.
160. Tam LE, Noroozi A. Effects of direct and indirect bleach on dentin fracture toughness. *J Dent Res*. 2007 Dec;86(12):1193-7.
161. Tedesco M, Chain MC, Bortoluzzi EA, da Fonseca Roberti Garcia L, Alves AMH, Teixeira CS. Comparison of two observational methods, scanning electron and confocal laser scanning microscopies, in the adhesive interface analysis of endodontic sealers to root dentine. *Clin Oral Investig*. 2018 Jul;22(6):2353-61.
162. Thapa A, Vivekananda PA, Thomas MS. Evaluation and comparison of bond strength to 10% carbamide peroxide bleached enamel following the application of 10% and 25% sodium ascorbate and alpha-tocopherol solutions: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2013 Mar;16(2):111-5.

163. Trindade TF, Moura LK, Raucci W Neto, Messias DC, Colucci V. Bonding Effectiveness of Universal Adhesive to Intracoronal Bleached Dentin Treated with Sodium Ascorbate. *Braz Dent J*. 2016 May-Jun;27(3):303-8.
164. Turgut MD, Attar N, Korkmaz Y, Gokcelik A. Comparison of shear bond strengths of orthodontic brackets bonded with flowable composites. *Dent Mater J*. 2011;30(1):66-71.
165. Türkkahraman H, Adanir N, Güngör AY. Bleaching and desensitizer application effects on shear bond strengths of orthodontic brackets. *Angle Orthod*. 2007 May;77(3):489-93.
166. Türkmen C, Gülerüz N, Atalı PY. Effect of sodium ascorbate and delayed treatment on the shear bond strength of composite resin to enamel following bleaching. *Niger J Clin Pract*. 2016 Jan-Feb;19(1):91-8.
167. Uceda-Gómez N, Loguercio AD, Moura SK, Grande RH, Oda M, Reis A. Long-term bond strength of adhesive systems applied to etched and deproteinized dentin. *J Appl Oral Sci*. 2007 Dec;15(6):475-9.

168. Uceda-Gómez N, Reis A, Carrilho MR, Loguercio AD, Rodriguez Filho LE. Effect of sodium hypochlorite on the bond strength of an adhesive system to superficial and deep dentin. *J Appl Oral Sci.* 2003 Sep;11(3):223-8.
169. Uysal T, Ertas H, Sagsen B, Bulut H, Er O, Ustdal A. Can intra-coronally bleached teeth be bonded safely after antioxidant treatment? *Dent Mater J.* 2010 Jan;29(1):47-52.
170. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater.* 2011 Jan;27(1):17-28.
171. Vargas MA, Cobb DS, Armstrong SR. Resin-dentin shear bond strength and interfacial ultrastructure with and without a hybrid layer. *Oper Dent.* 1997 Jul-Aug;22(4):159-66.
172. Vieira C, Silva-Sousa YT, Pessarello NM, Rached-Junior FA, Souza-Gabriel AE. Effect of high-concentrated bleaching agents on the bond strength at dentin/resin interface and flexural strength of dentin. *Braz Dent J.* 2012;23(1):28-35.

173. Vieira HH, Toledo JC Jr, Catelan A, Gouveia THN, Aguiar FHB, Lovadino JR, Lima DANL. Effect of sodium metabisulfite gel on the bond strength of dentin of bleached teeth. *Eur J Dent.* 2018 Apr-Jun;12(2):163-70.
174. Vongphan N, Senawongse P, Somsiri W, Harnirattisai C. Effects of sodium ascorbate on microtensile bond strength of total-etching adhesive system to NaOCl treated dentine. *J Dent.* 2005 Sep;33(8):689-95.
175. Wakabayashi Y, Kondou Y, Suzuki K, Yatani H, Yamashita A. Effect of dissolution of collagen on adhesion to dentin. *Int J Prosthodont.* 1994 Jul-Aug;7(4):302-6.
176. Wang Y, Chen C, Zang HL, Liang YH. The recovery effect of proanthocyanidin on microtensile bond strength to sodium hypochlorite-treated dentine. *Int. Endod. J.* 2019;52:371–6.
177. Watson TF, Azzopardi A, Etman M, Cheng PC, Sidhu SK. Confocal and multi-photon microscopy of dental hard tissues and biomaterials. *Am J Dent.* 2000 Nov;13:19-24.

178. Weston CH, Ito S, Wadgaonkar B, Pashley DH. Effects of time and concentration of sodium ascorbate on reversal of NaOCl-induced reduction in bond strengths. *J. Endod.* 2007;33:879–81.
179. Whang HJ, Shin DH. Effects of applying antioxidants on bond strength of bleached bovine dentin. *Restor Dent Endod.* 2015 Feb;40(1):37-43.
180. Xu B, Li Q, Wang Y. Effects of pH values of hydrogen peroxide bleaching agents on enamel surface properties. *Oper Dent.* 2011 Sep-Oct;36(5):554-62.
181. Yadav D, Golchha V, Paul R, Sharma P, Wadhwa J, Taneja S. Effect of tooth bleaching on orthodontic stainless steel bracket bond strength. *J Orthod Sci.* 2015 Jul-Sep;4(3):72-6.
182. Yoon M, Burrow MF, Wong R, Parashos P. Effect of sodium ascorbate on resin bonding to sodium perborate-bleached dentin. *Oper Dent.* 2014 Jan-Feb;39(1):98-106.
183. Zanolla J, Marques A, da Costa DC, de Souza AS, Coutinho M. Influence of tooth bleaching on dental enamel microhardness: a systematic review and meta-analysis. *Aust Dent J.* 2017 Sep;62(3):276-82.

184. Zantner C, Beheim-Schwarzbach N, Neumann K, Kielbassa AM. Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures. Dent Mater. 2007 Feb;23(2):243-50.
185. Zhang H, Shao S, Du A, Wang Y, Cheng B, Zhang Z. Comparative Evaluation of Two Antioxidants on Reversing the Immediate Bond Strength of Bleached Enamel: In Vitro Study. Med Sci Monit. 2020 Feb 22;26:e920481.
186. Zimmerli B, Jeger F, Lussi A. Bleaching of nonvital teeth. A clinically relevant literature review. Schweiz Monatsschr Zahnmed. 2010;120(4):306-20.

APÉNDICE DOCUMENTAL

8 APÉNDICE DOCUMENTAL

- Anexo 1: Resolución positiva del Comité Ético de Investigación en Humanos, de la Comisión de Ética en Investigación Experimental de la Universitat de València.
- Anexo 2: Consentimiento informado para la utilización de muestras biológicas.
- Anexo 3: Artículo de revisión sistemática: Gascón R, Forner L, Llena C. The Effect of Antioxidants on Dentin Bond Strength after Application of Common Endodontic Irrigants: A Systematic Review. Materials (Basel). 2023 Mar 11;16(6):2260.

ANEXO 1

Referencia de la solicitud 2023-ODON-2662292

El comité Ético de Investigación en Humanos de la Comisión de Ética en Investigación Experimental de la Universitat de València,

CERTIFICA:

Que el Comité d'Ètica d'Investigació en Humans, en la reunió celebrada el día 04 de Mayo de 2023, una vez estudiado el proyecto de tesis doctoral: *"Efecto de la aplicación de antioxidantes en las técnicas adhesivas sobre dientes no vitales blanqueados"*,

Cuyo/a responsable es D/Dña.

LEOPOLDO FORNER NAVARRO, dirigida por D/Dña. LEOPOLDO FORNER NAVARRO

ha acordado informar favorablemente el mismo.

Y para que conste, se firma el presente certificado

Av. Blasco Ibáñez, 13 tel: 963864109 vicerec.investigacio@uv.es
València 46010 fax: 963983221 www.uv.es/serinves

Firmado digitalmente por
PEDRO JESUS PEREZ ZAFRILLA
Fecha: 10/05/2023 17:58:10 CEST



Application Reference 2023-ODON-2662292

The Ethics Committee of Research in Humans of the Ethics Commission in Experimental Research of University of Valencia,

CERTIFY:

Hereby certify that the Ethics Committee of Research in Humans, in the session which took place on mayo 04, 2023, analysed the project of doctoral thesis entitled "*Effect of the use of antioxidants on the adhesive techniques in non-vital bleached teeth*", whose researcher in charge is LEOPOLDO FORNER NAVARRO, and agreed with this project. And in witness whereof, I hereby sign this certificate

Av. Blasco Ibáñez, 13 tel: 963864109 vicerec.investigacio@uv.es
València 46010 fax: 963983221 www.uv.es/serinves

Firmado digitalmente por
PEDRO JESUS PEREZ ZABILLA
Fecha: 10/05/2023 17:58:10 CEST



Referència de la sol·licitud 2023-ODON-2662292

Comité d'Ètica d'Investigació en Humans de la Comissió d'Ètica en Investigació Experimental de la Universitat de València,

CERTIFICA:

Que Comit  d'ètica d'Investigació en Humans, en la reunió que ting  lloc el dia 04 de maig de 2023, una vegada estudiat el projecte de tesi doctoral titulat: "*Efecte de la aplicació d'antioxidants en les tècniques adhesives sobre dents no vitals emblanquides*", que té com a responsable

LEOPOLDO FORNER NAVARRO, i que va dirigir LEOPOLDO FORNER NAVARRO, ha acordat emetre'n un informe favorablement.

I perquè aix  conste, signa aquest certificat.

Av. Blasco Ib nez, 13 tel: 963864109 vicerec.investigacio@uv.es
València 46010 fax: 963983221 www.uv.es/serinves

ANEXO 2

IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Durante la intervención a la que va a ser sometido, se extraerán uno o más dientes (según la indicación previa) que pueden ser utilizados en la investigación que se describe a continuación. El procedimiento que se le propone consiste en donar voluntariamente su diente, sin que ello suponga ningún riesgo añadido para su salud ni comprometa el correcto diagnóstico y tratamiento de su enfermedad. Dicho diente podrá ser utilizado para la investigación que lleva por título: "Efecto de la aplicación de antioxidantes en las técnicas adhesivas sobre dientes no vitales blanqueados" que se realizará en Valencia. Los dientes que done se almacenarán con los requisitos adecuados para su posterior uso en investigación, cumpliendo los requerimientos establecidos en la normativa vigente. Sus dientes sólo podrán ser utilizados en proyectos de investigación avalados científicamente y aprobados por un Comité de Ética para la Investigación. En ocasiones, dichos estudios se realizarán fuera del centro en el que ha sido tratado/a. Los especímenes serán custodiados y en su caso cedidos a terceros con fines de investigación biomédica en los términos previstos en la Ley 14/2007, de 3 de julio, y en el Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre.

OBJETIVO

El objetivo del estudio es: Comprobar si el efecto sinérgico de los agentes irrigantes utilizados en Endodoncia (hipoclorito de sodio al 5,25% y EDTA al 17%), junto con el de un agente blanqueante (peróxido de hidrógeno al 35%), disminuye la capacidad de adhesión de las resinas compuestas (utilizadas para la restauración del diente) a la dentina y, en su caso, si un agente antioxidante puede mejorar el procedimiento clínico.

GRATUIDAD POR LA PARTICIPACIÓN

Por la donación de las muestras biológicas, usted no percibirá ninguna compensación económica. La donación implica, la renuncia por parte de los donantes a cualquier derecho de naturaleza económica o de otro tipo sobre los resultados que pudieran derivarse de manera directa o indirecta de las investigaciones que se lleven a cabo con las muestras biológicas.

BENEFICIOS ESPERADOS

La investigación que se realizará utilizando dientes que usted dona voluntariamente, podrían ayudar en el futuro a mejorar los procedimientos de tratamiento de los procesos odontodestructivos en dientes que han sido sometidos previamente a un tratamiento de conductos y a una terapéutica blanqueadora.

CONSECUENCIAS PREVISIBLES DE LA DONACIÓN

Sólo si usted lo desea y, ante la repetición de una circunstancia como la actual (extracción de un diente), existe la posibilidad de que pueda ser contactado en el futuro para completar o actualizar la información de la que contamos en este momento y/o de tomar una nueva muestra que pudiera ser interesante en el desarrollo de la investigación biomédica, en cuyo caso volverá a ser informado/a de la situación y tendrá la libertad de participar o declinar dicha participación.

CONSECUENCIAS PREVISIBLES DE SU NO REALIZACIÓN Y DERECHO DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

La decisión de donar sus dientes es totalmente voluntaria, pudiendo negarse a donarlos e incluso pudiendo revocar su consentimiento en cualquier momento, sin tener que dar ninguna explicación y sin que ello tenga ninguna repercusión en la atención médica que recibe. Si decidiera revocar el consentimiento que ahora presta, la parte de las muestras que no se haya utilizado en la investigación, será destruida. Tales efectos, no se extenderán a los datos resultantes de las investigaciones que ya se hayan llevado a cabo con anterioridad.

RIESGOS

El procedimiento que se le propone no supone ningún riesgo añadido para su salud ni compromete el correcto diagnóstico y tratamiento de su enfermedad.

PROTECCIÓN DE DATOS PERSONALES Y CONFIDENCIALIDAD

No se requieren datos personales ni identificación de los sujetos donantes, es decir, se tomarán las muestras pero no se identificarán con ningún código, número, etc. que pueda permitir identificar al sujeto.

Se han adoptado las medidas oportunas para garantizar la completa confidencialidad de los datos personales de los sujetos de experimentación que participen en este estudio, de acuerdo con la Ley De Protección de Datos de Carácter Personal (LOPD) 3/2018, de 5 de diciembre. En el caso que se utilicen los resultados del estudio, con fines de docencia, investigación y/o publicación, se respetará siempre la debida anonimización de los datos de carácter personal, de modo que los sujetos de la investigación no resultarán identificados o identificables.

El titular de los datos personales podrá ejercitar los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición al tratamiento de datos de carácter personal, y de revocación del consentimiento, en los términos previstos en la normativa aplicable.

INFORMACIÓN DE CONTACTO

Si tienen alguna pregunta sobre este proyecto de investigación, puede consultar en cualquier momento a la investigadora: Regina Gascón Pellicer

Tf: 676062982

Correo electrónico: reginagascon@hotmail.com.

Si deciden participar en este proyecto, rellenen y firmen el formulario de consentimiento que aparece a continuación.

EJEMPLAR PARA EL PACIENTE

Si la persona es mayor de edad, se recomienda utilizar esta fórmula:

D./Dña. _____ mayor de edad, titular del DNI: _____, por el presente documento manifiesto los siguientes consentimientos:

Si la persona es menor de edad o está incapacitada legalmente, se recomienda utilizar esta fórmula:

D./Dña. _____, mayor de edad, titular del DNI: _____,
[padre, madre o tutor legal de _____], por el presente documento manifiesto los siguientes consentimientos:

DECLARO

- Que he leído la hoja de información que se me ha entregado.
- Que he comprendido las explicaciones que se me han facilitado.
- Que he podido realizar observaciones y me han sido aclaradas las dudas que he planteado.
- Que puedo revocar el consentimiento en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y sin que esto tenga ninguna repercusión negativa.
- Que de forma libre y voluntaria cedo las muestras biológicas que se me han propuesto y los datos de información que sean necesarios para el estudio
- Que puedo incluir restricciones sobre el uso de las mismas.

CONSIENTO

Que se utilicen las muestras biológicas obtenidas y los datos que se hallan recopilados en mi historia clínica para el mencionado estudio.

Que el investigador pueda acceder a mis datos en la medida en que sea necesario y manteniendo siempre su confidencialidad.

Que el personal del centro me contacte en el futuro en caso de que se estime oportuno añadir nuevos datos a los recogidos y/o tomar nuevas muestras. ☐ Sí ☐ No

☐ Deseo incluir la siguiente restricción al uso de mis datos:

.....

Nombre y apellidos	Nombre y apellidos
Firma PADRE / MADRE / TUTOR	Firma
<i>Sólo utilizar en caso de que sea menor o tenga declaración de incapacidad</i>	

Si el sujeto del estudio es un adolescente capaz intelectual y emocionalmente de entre 12 y 16 años debe de ser oída su opinión y autorizar su participación en el estudio firmando también este consentimiento. Cuando se trate de menores no incapaces ni incapacitados, pero emancipados o con 16 años cumplidos, no cabe prestar el consentimiento por representación y será el propio sujeto del estudio quien firmará el consentimiento (Ley 41/2002).

Declaración Investigador:

He informado debidamente al representante legal y/o y al paciente arriba mencionado

Fdo.: DNI

En a de de 20...

REVOCACIÓN

Fdo.: D./Dña

Revoco el consentimiento cedido para la utilización de los datos de mi hijo/a para el estudio
propuesto

En a de de 20...

EJEMPLAR PARA EL CENTRO

Si la persona es mayor de edad, se recomienda utilizar esta fórmula:

D./Dña. _____ mayor de edad, titular del DNI: _____, por el presente documento manifiesto los siguientes consentimientos:

Si la persona es menor de edad o está incapacitada legalmente, se recomienda utilizar esta fórmula:

D./Dña. _____, mayor de edad, titular del DNI: _____,
[padre, madre o tutor legal de _____], por el presente documento manifiesto los siguientes consentimientos:

DECLARO

- Que he leído la hoja de información que se me ha entregado.
- Que he comprendido las explicaciones que se me han facilitado.
- Que he podido realizar observaciones y me han sido aclaradas las dudas que he planteado.
- Que puedo revocar el consentimiento en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y sin que esto tenga ninguna repercusión negativa.
- Que de forma libre y voluntaria cedo las muestras biológicas que se me han propuesto y los datos de información que sean necesarios para el estudio
- Que puedo incluir restricciones sobre el uso de las mismas.

CONSIENTO

Que se utilicen las muestras biológicas obtenidas y los datos que se hallan recopilados en mi historia clínica para el mencionado estudio.

Que el investigador pueda acceder a mis datos en la medida en que sea necesario y manteniendo siempre su confidencialidad.

Que el personal del centro me contacte en el futuro en caso de que se estime oportuno añadir nuevos datos a los recogidos y/o tomar nuevas muestras. ☐ Sí ☐ No

☐ Deseo incluir la siguiente restricción al uso de mis datos:

.....

Nombre y apellidos	Nombre y apellidos
Firma PADRE / MADRE / TUTOR	Firma
<i>Sólo utilizar en caso de que sea menor o tenga declaración de incapacidad</i>	

Si el sujeto del estudio es un adolescente capaz intelectual y emocionalmente de entre 12 y 16 años debe de ser oída su opinión y autorizar su participación en el estudio firmando también este consentimiento. Cuando se trate de menores no incapaces ni incapacitados, pero emancipados o con 16 años cumplidos, no cabe prestar el consentimiento por representación y será el propio sujeto del estudio quien firmará el consentimiento (Ley 41/2002).

Declaración Investigador:

He informado debidamente al representante legal y al paciente arriba mencionado

Fdo.: DNI

En a de de 20...

REVOCACIÓN

Fdo.: D./Dña

Revoco el consentimiento cedido para la utilización de los datos de mi hijo/a para el estudio
propuesto

En a de de 20...

ANEXO 3

Systematic Review

The Effect of Antioxidants on Dentin Bond Strength after Application of Common Endodontic Irrigants: A Systematic Review

Regina Gascón, Leopoldo Forner *  and Carmen Llena 

Department of Stomatology, Universitat de València, 46010 Valencia, Spain

* Correspondence: forner@uv.es; Tel.: +34-963864175

Abstract: The purpose of this systematic review was to evaluate how an antioxidant treatment would influence the immediate bond strength of dental adhesives to endodontically treated dentine. Scientific evidence was researched in five databases using selected descriptors. Two independent reviewers conducted the investigation and assessed the data and methodological quality of the studies. Inclusion and exclusion criteria were specified for article selection; only studies in English and published between 2001 and 2022 were evaluated. A total of 18 studies were selected and analysed. According to most studies, the irrigation procedure and substrate preparation in endodontic therapy may affect the immediate bond strength. Antioxidants can improve bond strength and adhesion following the use of the most frequently used irrigants in root canal treatments. Therefore, antioxidant treatment can be considered a proper technique to enhance the bond strength of endodontically treated teeth.

Keywords: antioxidants; sodium hypochlorite; bond strength; adhesion; dentine; irrigants; systematic review



Citation: Gascón, R.; Forner, L.; Llena, C. The Effect of Antioxidants on Dentin Bond Strength after Application of Common Endodontic Irrigants: A Systematic Review. *Materials* **2023**, *16*, 2260. <https://doi.org/10.3390/ma16062260>

Academic Editor: Edgar Schäfer

Received: 8 February 2023

Revised: 5 March 2023

Accepted: 9 March 2023

Published: 11 March 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Success in endodontic treatment is based on the effective shaping and cleaning of root canals. It is a well-known fact that eliminating bacteria and biofilms from the root canal spaces is a difficult task in which the use of various instrumentation techniques alone is not effective [1]. Obtaining a favourable outcome depends on the eradication of microbes (present) in the root canal system and the prevention of reinfection with the use of mechanical procedures and chemical disinfecting products. The root canal is shaped under constant irrigation with the aim of removing not only the microbes/biofilms but the inflamed and necrotic tissue as well as other debris from the root-canal space that may interfere with the future sealing procedure [2]. Hence, infections of endodontic origin are mainly treated by mechanical procedures as well as chemical substances. All the functions required from an irrigant are not adequately recovered by a single irrigant solution. Optimal irrigation is based on the combination in a specific sequence of several irrigant solutions to obtain, in a predictable way, the goals of safe and effective irrigation [2,3].

Numerous irrigants have been recommended for eradicating bacteria and necrotic tissues of root canal infections. Sodium hypochlorite (NaOCl) has been widely used as an irrigant since its introduction in endodontics [4]. NaOCl has a disinfecting action as well as the ability to dissolve the pulpal remnants and organic components of dentine and predentine in non-instrumented surfaces [1]. NaOCl used in combination with other disinfectants such as Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), citric acid, chlorhexidine (CHX), or alone represents the most used endodontic irrigant [3].

Nevertheless, the chemical irrigants (NaOCl, EDTA, and CHX) used during root canal treatments to provide gross debridement, lubrication, eradication of microbes, and decomposition of tissues, end up altering the chemical and mechanical characteristics

of dentin, which affects its interaction with the restorative materials used for coronal sealing [5]. Radicals released in the process of the dissolution of tissues compete with vinyl-free radicals produced by the light curing of resins, which leaves incomplete the end of the chain and the polymerisation unfinished, thus compromising the bond strength of the adhesive system. In this process, the dentinal calcium and phosphate contents are reduced and the mechanical properties of dentin, such as the elastic modulus, bending strength, and hardness, are weakened. Thus, the micro-mechanical interactions between adhesive resins and the root canal dentin decrease after irrigation with sodium hypochlorite [6–8].

The quality of the permanent coronal restoration has a great influence on the general prognosis of endodontically treated teeth. In contemporary dental practice, the chance to restore such teeth with resin composite has increased as a result of the continuous revolution in adhesive system formulations [5]. On the other hand, these bond strengths compromised by NaOCl-treated dentin could affect the success of our treatment.

To reverse the effects of these products on dentine and reduce the number of visits by our patients, the application of an antioxidant solution has been proposed prior to the adhesive procedure [9,10]. These antioxidants can interact with the NaOCl by-products, resulting in the neutralisation and reversal of the oxidising effect of the NaOCl-treated dentin surface [11] and hence, improve the success of our treatments. The antioxidants can interact with the residual oxygen released by irrigants, responsible for inhibiting the polymerisation of the resin composite, and, therefore, enhance the bond strength of the final restoration [9].

Thus, the aim of this study was to evaluate whether an antioxidant treatment would influence the immediate bond strength of dental adhesives to teeth exposed to any type of endodontic irrigant based on a systematic review.

2. Materials and Methods

This systematic review was described according to the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA Statement) [12], and it was registered in OSF Registries (DOI 10.17605/OSF.IO/TDZPB).

2.1. Search Strategies

The literature research was carried out by two independent reviewers (R.G. and L.F.) who evaluated all the information published until 21 July 2022 and updated on 2 October 2022 considering unlimited publication date and no language restriction. The following databases were screened: Pubmed (Medline), Web of Science, Scopus, Embase, and Cochrane using the search strategy is described in Table 1. The asterisk (*) in Table 1 represents any group of characters, including no character, used at the end of the root of the term.

Table 1. Search terms used in databases.

Data Bases	Search Terms
Web of Science	((ALL = ("sodium hypochlorite" OR edta OR chlorhexidine OR irrig*)) AND ALL= (endod*)) AND ALL= (adhes* OR bond*)) AND ALL (antiox*)
Pubmed (MEDLINE)	("sodium hypochlorite" OR edta OR chlorhexidine OR irrig*) AND (endod*) AND (adhes* OR bond*) AND (antiox*)
Embase	("sodium hypochlorite" OR edta OR chlorhexidine OR irrig*) AND (endod*) AND (adhes* OR bond*) AND (antiox*)
Cochrane	("sodium hypochlorite" OR edta OR chlorhexidine OR irrig*) AND (endod*) AND (adhes* OR bond*) AND (antiox*) in All Text Topics: Dentistry and oral health and Dental caries
Scopus	("sodium hypochlorite" OR edta OR chlorhexidine OR irrig*) AND (endod*) AND (adhes* OR bond*) AND (antiox*)

2.2. Study Eligibility

The eligibility criteria were conducted according to the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analysis (PRISMA) [13] guidelines and the Population, Intervention, Comparison and Outcome (PICO) design:

- P(opulation): in vitro clinical studies including human or animal enamel or dentine;
- I(ntervention): teeth in which an endodontic treatment was completed with sodium hypochlorite, EDTA, or chlorhexidine and that were subjected to an application of antioxidant agents and a following adhesive restoration;
- C(omparison): teeth in which an endodontic treatment but no application of antioxidant was completed before the adhesive restoration;
- O(utcome): bond strength tests, pull-out tests, or microscope observation.

Full-text manuscripts were reviewed and selected according to the following eligibility criteria: (1) in vitro studies that assessed the effect of the influence of antioxidants on the bond strength of adhesive systems to teeth that were endodontically treated using sodium hypochlorite, EDTA, chlorhexidine, or another irrigant solution; (2) studies contemplating a negative control group (without irrigant nor antioxidant); and (3) studies including analysis of shear, microshear, tensile, microtensile bond tests, or microscope evaluations produced by means of an objective, reproducible, and statistically supported method (if applicable).

Parallely, the following criteria were reasons for the exclusion of studies for qualitative synthesis: (1) manuscripts other than in English and Spanish (or another language that could be translated into these languages); (2) non-original articles (systematic review/narrative/umbrella, bibliometric/scientometric study); (3) studies and/or comparison of irrigants or antioxidants not used in the endodontic field; (4) analysis of parameters other than bond strength or adhesion (throughout mechanical or observational tests) of a resin composite in the coronal part of teeth.

2.3. Study Selection

Studies were, in the first place, recognized by title and abstract evaluation. Likewise, studies with deficient or inadequate information in the aforementioned sections to determine their relevance were included for detailed review. Full articles were obtained and thoroughly examined. The full-text papers were independently evaluated by two reviewers (R.G. and L.F.) who decided which of the studies were included in this review through discussion and consensus.

2.4. Data Collection Process and Data Items

Relevant data were extracted using a standardised form in Excel 2019 MSO (Microsoft). Data included author; country; year; type of specimen (human or animal origin) and number; type, concentration, and time use of irrigant and the surface on which it was applied; type, concentration, and time of antioxidant application; type of bonding and steps; type of material used for obturation and steps; the statistical method used; and the bonding test used or microscopic observation.

The specimens used in the study areas were subjected to a trial's inclusion and exclusion criteria before their selection for the study. Once selected, the storage method was checked.

One review author extracted the subsequent data from the included studies and arranged it in an Excel sheet, while the second author examined the extracted data. Disagreements were resolved by discussion and consensus between the two review authors; if no agreement could be reached, a third author was planned to make the final decision, but this was not necessary for any situation.

2.5. Assessment of Bias Risk and Quality of Included Studies

The methodological quality and risk of bias of each included study were evaluated by two reviewers based on the modified parameters established in previous systematic reviews of in vitro studies [14–16] and based on the Checklist for Reporting In Vitro Studies -CRIS Guidelines- [17].

The risk of bias in the articles was determined by the following parameters: teeth randomisation, use of sound teeth free of caries or restorations with similar dimensions, description of the sample size calculation, use of materials in accordance with the manufacturer's instructions, procedures performed by a single operator, the blinding of the operator of the testing machine, and coefficient of variation [14]. If the authors reported the parameter, the study received a "YES" (Y) for that specific parameter. In the case of missing information, the parameter was assigned a "NO" (N).

The coefficient of variation (CV) was determined for those articles that achieved shear and tensile strengths [18]. To determine the coefficient of variation parameter (CV, the ratio of the standard deviation to the mean), the results of each article were calculated and classified as low, medium, high, and very high [18]. Articles with low or medium CV outcomes were scored with a "YES," whereas articles with high or very high CV were scored with a "NO." The coefficient of variation was only achieved in those studies in which a bond strength test was accomplished.

Considering the before-mentioned parameters, articles that documented one to three data were normally classified as having a high risk of bias, four or five data with a medium risk of bias, and six or seven data with a low risk of bias [15]. Due to the fact that some of the studies were observational, the coefficient of variation was not applicable; hence, we decided to apply the risk of bias as a percentage, considering that it was more objective to compare the risk of bias among all studies. Thus, studies with a percentage below 60% were evaluated as having a high risk of bias, studies between 60% and 80% were evaluated as having a medium risk of bias, and studies with a percentage above 80% were evaluated as having a low risk of bias.

3. Results

3.1. Study Selection

A flow chart (Figure 1) is included to explain the reasons for the inclusion and exclusion of the examined articles. A total of five databases were consulted for information based on the eligibility criteria explained above (Table 1). In total, 56 studies were obtained according to the selected databases. A total of 28 duplicated records were removed, and 2 of them were excluded due to the impossibility of their reading. After the 26 articles were read, 7 additional studies were rejected because they did not fit in the original parameters (either they did not study adhesion or bond strength, or they did not use any of the specific irrigants or antioxidants). Subsequent to this screening, a total of 19 articles were selected, out of which, an additional 1 [14] had to be excluded because it was considered to be a review article. In the end, a total of 18 [19–36] full articles were included in our study.

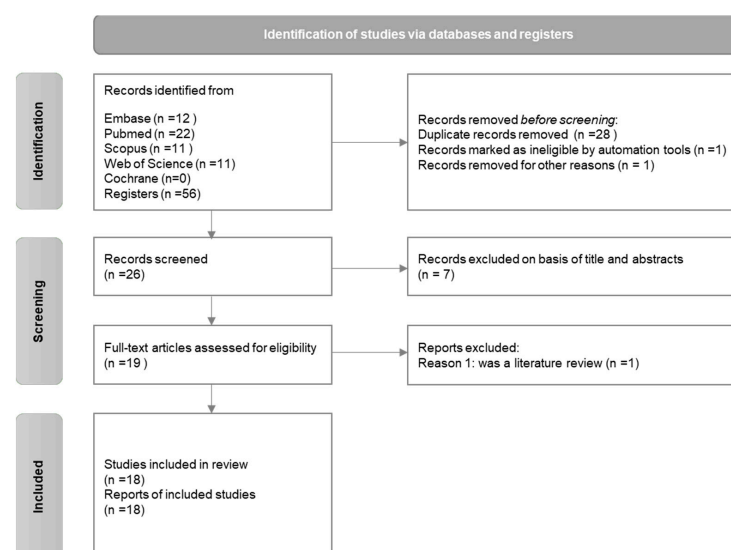


Figure 1. Flowchart showing the identification of studies via databases and registers [12].

3.2. Study Characteristics

For each study, data were extracted and presented in Table 2.

- Epidemiological features: All the included articles were in vitro reports and published between 2001 and 2022 in English;
- Study locations: Six studies were fulfilled in India [19–24], three in Turkey [25–27], three in the USA [28–30], two in Brazil [31,32], two in China [33,34], one in Japan [35], and one in Iran [36].
- Specimens: All research was conducted in vitro. Most of the studies conducted tests on the extraction of human teeth [19–30,33–36] (except for two that studied bovine teeth [31,32];
- Storage Protocols: Teeth were stored in different chemical substances after extraction. Different storage conditions were presented such as sterile water [19], distilled water [21–23,25,31], or deionised water (Wang); in thymol at 0.2% [20,32] or 0.1% [35]; in a chloramine solution (in 0.5% for one week and subsequently in distilled water [26]; or in 0.2% [36]) and others used other combinations such as 0.02% sodium azide [34], 0.5% Chloramine T Trihydrate [29], and 0.9% NaCl containing 0.02% sodium azide [30]. Three studies did not indicate where the specimens were stored [24,27,28];
- Irrigation Protocols: A wide variety of irrigants was used. All studies tested the influence of NaOCl by itself or compared it with the effect of EDTA, chlorhexidine, povidone iodine, MTAD, and hydrogen peroxide. Seven authors studied the effect of NaOCl by itself in different concentrations at various times (5.25% NaOCl: 10 min [25,31] and 20 min [33]; 5% NaOCl: for 15–20 min [28]; and 5.25% NaOCl during 15–20 min [30]); less concentration and time (2.5% NaOCl, for 1 min [36], 3% NaOCl, for 2 min [22], 1% NaOCl, for 10 min) [23]; and a higher concentration (6% NaOCl for 20 min [29]);
- Some authors [19,20,23,32] combined the use of NaOCl with EDTA using a unique irrigation protocol for all groups of the study: Bansal et al. [19] used a total of 5 mL of 5.25% NaOCl followed by a rinse with 5 mL of 17% EDTA and final irrigation with 5 mL of 5.25% NaOCl; Bharti et al. [20] and Pimentel-Corrêa et al. [32] used the same irrigation protocol combining NaOCl and EDTA (5.25% of NaOCl for 30 min, followed by 17% EDTA for 3 min and a final rinse of 5.25% NaOCl for 1 min); and Nagpal et al. [23] used an irrigation protocol combining 1% NaOCl for 10 min and 17% EDTA for 1 min;
- Other authors compared the use of NaOCl with other irrigants: Bansal et al. [19] compared the use of NaOCl with Chlorhexidine (CHX) and Povidone Iodine (5.25% NaOCl for 1 min; 0.2% CHX for 1 min; and 5% povidone iodine); Dikmen et al. [26] compared NaOCl with EDTA and CHX (5.25% NaOCl for 30 s; 17% EDTA for 1 min followed by an application of 5.25% NaOCl for 30 s; 2% CHX for 5 min); Nassar et al. [35] compared NaOCl with CHX (10 mL 5% NaOCl for 10 min; 10 mL 5% NaOCl for 10 min and 5 mL 2% CHX); Pamir et al. [24] compared NaOCl with Hydrogen Peroxide (HP) (5% NaOCl; HP during 30 min of exposure); Sariyilmaz et al. [27] compared NaOCl with CHX (5.25% NaOCl for 30 min; 2% CHX for 30 min); and Shrestha et al. [34] compared NaOCl with MTAD and EDTA (using different groups of study with 1.3% NaOCl, 5.2% NaOCl, MTAD, 17% EDTA, 1.3% NaOCl + MTAD, or 1.3% NaOCl + MTAD);
- Bonding Techniques: Differences emerged when bonding was tested in the dentinal root or dentinal. When testing was performed on the coronal part of the tooth, the authors [19,20,22–26,30,32,33] always used a composite when testing the root, dual-cured cement [24], self-adhesive resin cement [36], AH Plus sealer [21], self-curing resin [28], Epiphany SE sealer [35], MTA [27], RealSeal SE [34], and three types of cements: Total etch technique (Variolink II); self-etching, self-adhesive dentin-bonding agent (Multilink and Clearfil Esthetic Cement EX); and self-etching and self-adhesive cements (SpeedCEM and Clearfil SA Cement) [29];
- Use of Antioxidant: The majority of the studies used 10% sodium ascorbate (SA) as an antioxidant agent, using it at different times [19,22,24–26,28,29,31,33–35], and

Weston et al. [30] used 10% SA from 1 to 10 min. Bharti et al. [20] reduced it to 5% SA (5 min). The next most frequently used antioxidant was proanthocyanidin (PA, from grape seed extract) which was used in different concentrations such as 6.5% [21], 30% [22], 5%, 10%, and 15% [33]. Other antioxidants were used such as 10% rosmarinic acid [36], 10% hesperidin [36], 5% alpha-tocopherol [20,32], 5% sodium thiosulfate [20,27], and Bamboo Salt (BS) [21] and Quercetin [24] were also used;

- Testing Methods: When testing the bonding of these materials, some studies used microtensile or shear bond-strength tests [20,29,30,33,35]; others relied on SEM observation [19,22,23]; others used both [25,32,36]; and other authors used shear bond strength tests and observation under stereomicroscope [26,28,31], dye-penetration test under microscope [24], or Push-out bond strength tests [21,27,34].

Table 2. Summary of the data extracted from the articles reviewed.

Authors, Year and Country	Study Size	Surface to Which Material Was Bonded	Irrigant Used	Antioxidant	Adhesion or Bond Test Studied?	Material to Which Dentine Was Bonded to
Bansal et al., 2008 India [19]	116 human molars (8 groups of $n = 12$)	dentinal coronal (pulp chamber) surface	Sodium hypochlorite (NaOCl) 5.25% 1 min OR 0.2% Chlorhexidine (CHX) 1 min OR povidone iodine 5% 1 min	Sodium ascorbate (SA) 10% 1 min	Scanning Electron Microscopic Evaluation	Composite (Surefil (Dentsply) light cured for 40 s)
Bharti et al., 2021 India [20]	40 human incisors (5 groups of $n = 8$)	dentinal coronal surface	NaOCl 5.25% 30 min, AND Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 17% 3 min AND NaOCl 5.25% 1 min	SA 5% 5 min; alpha-tocopherol 5% 5 min; Na ₂ S ₂ O ₃ 5% 5 min (sodium thiosulfate)	Microtensile bond strength (μ TBS)	Composite (Te-Econom plus Ivoclar Vivadent) light cured for 20 s
Celik et al., 2010 Turkey [25]	80 human molar teeth ($n = 10$)	dentinal coronal surface	NaOCl 5.25% for 10 min	SA 10% for 10 min	SEM observation; and Shear bond strengths	Composite Clearfil AP-X (Kuraray), polymerised for 40 s
Dikmen et al., 2018 Turkey [26]	60 human third molars ($n = 5$)	dentinal coronal surface	5.25% NaOCl for 30 s OR 17% EDTA 1 min + 5.25% NaOCl for 30 s OR 2% CHX for 5 min.	SA 10% 10 min	μ TBS test and examined under a stereomicroscope	composite Filtek Z250
Furuse et al., 2014 Brazil [31]	30 bovine incisors ($n = 5$)	dentinal root surface	5.25% NaOCl 10 min	SA 10% 10 min.	μ TBS and the failure modes were analysed through visual inspection with an 18 $\times$ magnification under a stereomicroscope	dual-cured cement (RelyX ARC, 3M ESPE)
Khoroushi et al., 2013 Iran [36]	75 single-rooted human teeth ($n = 15$)	dentinal root surface	2.5% NaOCl 1 min	10% rosmarinic acid, 10% hesperidin, 10% SA 2 min	μ TBS test and SEM examination	self-adhesive resin cement (Bifix SE, Voco GmbH)
Kumar et al., 2019 India [21]	33 single rooted human teeth ($n = 11$)	dentinal root	5 mL of 5.25% NaOCl AND 5 mL of 17% EDTA AND 5 mL of 5.25% NaOCl	25% Bamboo Salt, 6.5% (proanthocyanidin) PA	Push-out bond strength testing and fractured samples were viewed under a stereomicroscope at 40 $\times$ magnification	AH Plus sealer
Morris et al., 2001 USA [28]	56 human single-rooted teeth ($n = 8$)	dentinal root	5% NaOCl 15 to 20 min	10 mL of 10% SA 10 min	tensile bond strength and failed bonds were examined in a stereomicroscope at 15 $\times$	The self-curing resin (C & B Metabond) curing time, 10–15 min
Nagpal et al., 2007 India [22]	90 human premolars ($n = 15$)	dentinal coronal surface	3% NaOCl 2 min	SA 10% 1 min	Scanning Electron Microscopy	Composite Spectrum TPH (Dentsply Detrey) and light cured for 40 s
Nagpal et al., 2013 India [23]	66 human mandibular molars ($n = 11$)	dentinal coronal surface	1% NaOCl 10 min and 17% EDTA 1 min	30% PA for 1 min.	Scanning Electron Microscopy	composite resin Filtek Z250 (3M, ESPE)

Table 2. Cont.

Authors, Year and Country	Study Size	Surface to Which Material Was Bonded	Irrigant Used	Antioxidant	Adhesion or Bond Test Studied?	Material to Which Dentine Was Bonded to
Nassar et al., 2011 Japan [35]	50 extracted human molar ($n = 10$)	dentinal root	10 mL 5% NaOCl for 10 min OR 10 mL 5% NaOCl for 10 min AND 5 mL 2% CHX.	10 min 10 mL 10% SA	Shear Bond Strength Testing	Epiphany SE sealer was injected and light-cured for 40 s
Pamir et al., 2006 India [24]	70 single root human teeth ($n = 10$)	dentinal root	5% NaOCl, OR Hydrogen-peroxide	10 mL 10% SA 10 mL of Quercetin(Q) (does not specify concentration)	dye-penetration test under microscope	Resin composite [Ceram-x mono] and was cured for 40 s
Pimentel Corrêa et al., 2016 Brazil [32]	63 bovine incisors ($n = 7$)	dentinal coronal surface	5 mL 5.25% NaOCl for 30 min AND 5 mL 17% EDTA for 3 min AND NaOCl for 1 min.	5 mL 0.5% and 5% Sodium thiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) solution for 1, 5, or 10 min	Microtensile Bond Strength and Scanning Electron Microscopic Analysis	1 mm of a resin composite (Filtek Z250, 3 M/ESPE)
Sariyilmaz et al., 2019 Turkey [27]	150 slices of root canal taken of canine human teeth ($n = 30$)	dentinal root	5.25% NaOCl solution for 30 min OR 2% CHX solution for 30 min	Sodium thiosulphate	Push-out bond strength tests	MTA
Shrestha et al., 2013 China [34]	100 single rooted human teeth ($n = 10$)	dentinal root	1.3% NaOCl OR 5.2% NaOCl OR MTAD OR 17% EDTA 1.3% NaOCl + MTAD OR 1.3% NaOCl + sodium ascorbate + MTAD OR 1.3% NaOCl + MTAD	SA 10% 1 min	Micro-Raman spectroscopic analysis and micro push-out bond test.	RealSeal SE
Stevens, 2014 USA [29]	70 human molars and premolars ($n = 10$)	dentinal root	6% NaOCl for 20 min	5 s in 1.2 mL 10% SA, 1 min in 2 mL 10% SA	Shear bond test	Three types of cements: Total etch technique (Variolink II); self-etching, self-adhesive dentin-bonding agent, f (Multilink and Clearfil Esthetic Cement EX); and self-etching and self-adhesive cements (SpeedCEM and Clearfil SA Cement)
Wang et al., 2019 China [33]	55 third molars ($n = 5$)	dentinal coronal surface	5.25% NaOCl for 20 min.	PA (5%, 10%, or 15%) for 1 min, 5 min, or 10 min.	Microtensile bond strength	composite resin (Clearfil AP-X light-cured 20 s)
Weston et al., 2007 USA [30]	33 human single-rooted teeth ($n = 6$)	dentinal root	0.9% NaOCl OR 5.25% NaOCl 15–20 min per tooth	10% SA 10 min, 3 min and 1 min, 20%SA 1 min	Microtensile bond strength	C & B Metabond self-curing resin (curing time, 10–15 min).

3.3. Risk of Bias

The risk of bias in each study is shown in Table 3. All the gathered information is mentioned in the 2.5 Assessment of bias risk and quality of included studies (teeth randomisation, use of sound teeth, sample size description, use of materials according to the manufacturer's instructions, single operators, blinding operator in the machine testing, and the coefficient of variation (as described above) [14–16]. Among the 18 studies, 7 were classified as high risk of bias, 9 studies as medium risk of bias, and 2 as low risk of bias.

Table 3. Risk of bias in each study.

Authors	Teeth Randomisation	Use of Sound Teeth	Sample Size Description	Use of Materials according to the Manufacturer's Instructions	Single Operator	Testing Machine Operator Blinding	Coefficient of Variation	Risk of Bias
Bansal et al. [19]	YES (Y)	Y	Y	Y	NO (N)	N	N.A. (not applicable)	MEDIUM
Bharti et al. [20]	Y	Y	Y	N	Y	Y	LOW: YES	LOW
Celik et al. [25]	Y	Y	Y	Y	N	N	LOW: YES	MEDIUM
Dikmen et al. [26]	Y	Y	Y	Y	N	Y	LOW: YES	LOW
Furuse et al. [31]	N	Y	N	Y	N	N	VERY HIGH: NO	HIGH
Khoroushi et al. [36]	Y	Y	Y	Y	N	N	VERY HIGH: NO	MEDIUM
Kumar et al. [21]	N	Y	Y	N	N	N	VERY HIGH: NO	HIGH
Morris et al. [28]	Y	Y	Y	Y	N	N	INTERMEDIATE: YES	MEDIUM
Nagpal et al. [22]	N	Y	Y	N	N	Y	N.A.	HIGH
Nagpal et al. [23]	Y	Y	Y	Y	N	N	N.A.	MEDIUM
Nassar et al. [35]	Y	Y	Y	N	N	N	LOW: YES	MEDIUM
Pamir et al. [24]	N	Y	Y	N	N	N	N.A.	HIGH
Pimentel-Corrêa et al. [32]	Y	N	N	N	N	N	LOW: YES	HIGH
Sariyilmaz et al. [27]	Y	N	Y	N	N	N	LOW: YES	HIGH
Shrestha et al. [34]	Y	N	Y	Y	N	N	LOW: YES	MEDIUM
Stevens et al. [29]	Y	Y	Y	Y	N	N	INTERMEDIATE: YES	MEDIUM
Wang et al. [33]	Y	Y	Y	N	N	N	N.A.	HIGH
Weston et al. [30]	Y	Y	Y	Y	N	N	INTERMEDIATE: YES	MEDIUM

3.4. Results of Individual Studies

All outcomes and statistical analysis evaluated in this systematic review are detailed in the table below (Table 4):

Table 4. Summary statistic for each study.

Authors	Surface to Which Material Was Bonded	Testing Method	Results	Type of Statistical Analysis	Outcomes
Bansal et al., 2008 India [19]	dentinal coronal (pulp chamber) surface	SEM Observation		Scores were analysed with Kruskal–Wallis nonparametric analysis followed by Mann–Whitney U-test to evaluate differences among the experimental groups at a significance level of $p = 0.05$.	Effective
Bharti et al., 2021 India [20]	dentinal coronal surface	Microtensile bond strength (μ TBS) test	Group I (Positive control): 5 mL of 5.25% NaOCl-30 min and 17% EDTA 3 min and 5.25% NaOCl 1 min 15.38 ± 1.22 Group II (Negative control): No irrigation and no antioxidant. 21.49 ± 1.48 Group III: As in group I + 5 mL of 5% SA 10 min 19.36 ± 1.39 Group IV: As in group I + 5 mL of 5% Alpha Tocopherol 10 min 17.90 ± 1.54 Group V: As in group I + 5 mL of 5% Na ₂ S ₂ O ₃ 10 min 22.38 ± 0.84	Under the normal distribution, the data were analysed by one-way ANOVA ($p = 0.05$). Comparison of Microtensile bond strength between the groups was explained by Mann–Whitney U test.	Effective
Celik et al., 2010 Turkey [25]	dentinal coronal surface	SEM observation; and Shear bond strengths	Group 1: 5.25% NaOCl for 10 min + Clearfil SE Bond (NaOCl/CSE) 21.15 ± 5.23 Group 2: 5.25% NaOCl for 10 min + Clearfil Tri-S Bond (NaOCl/CTS) 21.37 ± 8.24 Group 3: 5.25% NaOCl for 10 min + Adper Prompt-L-Pop (NaOCl/APLP) 19.26 ± 5.10 Group 4: 5.25% NaOCl for 10 min + Adper Single Bond 2 (NaOCl/ASB2) 17.68 ± 5.11 Group 5: 5.25% NaOCl for 10 min + Sodium Ascorbate (10%) 10 min + Clearfil SE Bond (ASC/CSE) 24.26 ± 6.03 Group 6: 5.25% NaOCl for 10 min + Sodium Ascorbate (10%) 10 min + Clearfil Tri-S Bond (ASC/CTS) 27.37 ± 6.17 Group 7: 5.25% NaOCl for 10 min + Sodium Ascorbate (10%) 10 min + Adper Prompt-L-Pop (ASC/APLP) 32.37 ± 5.45 Group 8: 5.25% NaOCl for 10 min + Sodium Ascorbate (10%) 10 min + Adper Single Bond 2 (ASC/ASB2) 19.52 ± 4.02	The data were analysed by two-way ANOVA. Differences between the groups were analysed using a post hoc Tukey HSD test ($p < 0.05$).	Effective
Dikmen et al., 2018 Turkey [26]	dentinal coronal surface	μ TBS test and stereomicroscope examination	Single Bond Group and Control: 37.2 ± 5.0 ; and NaOCl 18.9 ± 4.3 ; and NaOCl + EDTA 15.4 ± 3.9 ; and CHX 22.0 ± 4.5 ; and NaOCl + SA 29.0 ± 4.9 . SE Bond Group and Control: 39.5 ± 5.2 ; and NaOCl 26.9 ± 6.5 ; and NaOCl + EDTA 22.0 ± 5.9 ; and CHX 39.8 ± 4.8 ; and NaOCl + SA 34.8 ± 5.2 . Xeno 3 Group and Control: 20.7 ± 5.0 ; and NaOCl 21.1 ± 4.9 ; and NaOCl + EDTA 16.0 ± 5.1 ; and CHX 18.0 ± 4.7 ; and NaOCl + SA 23.2 ± 4.2 .	The Kolmogorov–Smirnov test was used to assess for a normal data distribution. The mean bond strength data were statistically analysed by two-way analysis of variance (ANOVA) and one-way ANOVA. The level of statistical significance was set at $p < 0.05$.	Effective
Furuse et al., 2014 Brazil [31]	dentinal root surface	μ TBS test and stereomicroscope examination	SBMP Group: Apical: Control 1.98 (1.35); NaOCl 1.14 (0.71); NaOCl + SA 2.86 (0.61) Middle: Control 5.30 (1.69); NaOCl 4.65 (1.44); NaOCl + SA 5.26 (0.93) Coronal Control 9.59 (3.29); NaOCl 6.73 (2.24); NaOCl + SA 7.35 (2.04) Xeno III Group: Apical: Control 5.04 (2.53); NaOCl 0.33 (0.10); NaOCl + SA 1.70 (0.54) Middle: Control 9.27 (2.86); NaOCl 0.91 (0.28); NaOCl + SA 4.68 (1.24) Coronal: Control 11.69 (5.02); NaOCl 3.87 (1.09); NaOCl + SA ± 10.09 (2.1)	The data were statistically analysed using three-way ANOVA. Multiple comparisons were made using Tukey’s test ($\alpha = 0.05$).	Effective
Khoroushi et al., 2013 Iran [36]	dentinal root surface	μ TBS test and SEM examination	1. Control-(irrigated with normal saline) 9.27 ± 3.19 2. Control+ (2.5% NaOCl 2 min) 6.71 ± 2.56 3. 2.5% NaOCl 2 min + RA 8.86 ± 3.02 4. 2.5% NaOCl 2 min + HPN 9.30 ± 2.49 5. 2.5% NaOCl 2 min + SA 10.03 ± 2.59	The data were analysed using the Kolmogorov–Smirnov test, one-way ANOVA, and Tukey’s HSD test ($\alpha = 0.05$).	Effective
Kumar et al., 2019 India [21]	dentinal root	Push-out bond strength test and stereomicroscope examination	1. 5.25% NaOCl: coronal 0.34 ± 0.15 ; middle 0.68 ± 1.06 ; apical 0.53 ± 0.22 2. 6.5% PA: coronal 2.22 ± 0.73 ; middle 1.99 ± 0.33 ; apical 1.16 ± 0.17 3. 25% BS: coronal 1.65 ± 0.34 ; middle 1.84 ± 0.55 ; apical 1.42 ± 0.30	The PBS data were subjected to Kruskal–Wallis and Dunn’s post hoc test. The significance was set at $p < 0.05$.	Effective

Table 4. Cont.

Authors	Surface to Which Material Was Bonded	Testing Method	Results	Type of Statistical Analysis	Outcomes
Morris et al., 2001 USA [28]	dentinal root	μ TBS test and stereomicroscope examination	G1. 0.9% NaCl: $23.6 \pm 2.4.5$ G2. 2.5% NaOCl: 7.72 ± 4.6 G3. RC-Prep (15% EDTA, 10% urea, HP and carbowax): 14.0 ± 4.6 G4. 0.9% NaCl + 10% SA 10 min: 25.9 ± 3.9 G5. 5% NaOCl + 10% SA 10 min: 27.7 ± 4.5 G6. 5% NaOCl + 10% SA 10 min: 30.6 ± 3.7 G7. RC-Prep + 10% SA 10 min: 21.1 ± 4.8	A two-way analysis of variance was performed using surface treatments. Multiple comparison post hoc tests were performed using Tukey's honest significance difference test at $\alpha = 0.05$.	Effective
Nagpal et al., 2007 India [22]	dentinal coronal surface	SEM observation		The results were analysed with Kruskal–Wallis non-parametric analysis followed by Mann–Whitney U test to evaluate differences among the experimental groups at a significance level of $p = 0.05$.	Effective
Nagpal et al., 2013 India [23]	dentinal coronal surface	SEM observation		Microleakage scores were statistically analysed by Kruskal–Wallis non-parametric analysis and Mann–Whitney U-tests at a significance level of $p < 0.05$.	Effective
Nassar et al., 2011 Japan [35]	dentinal root	μ TBS Test	G I, control (deionized water) 0.29 ± 0.10 G II (NaOCl) 0.30 ± 0.12 G III (NaOCl/SA) 0.93 ± 0.13 G IV (NaOCl/CHX) 0.53 ± 0.11 G V (NaOCl/SA/CHX) 0.99 ± 0.14	One-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare the mean shear bond strengths of the 5 groups, and the Tukey test was performed for post hoc comparisons. The significance level was set at 0.05.	Effective
Pamir et al., 2006 India [24]	dentinal root	dye-penetration test under microscope		Kruskal–Wallis test, Mann–Whitney U, and Wilcoxon W tests were used. The significance level was set at $p < 0.05$.	Effective
Pimentel Corrêa et al., 2016 Brazil [32]	dentinal coronal surface	μ TBS test and stereomicroscope examination	Negative control 31.26 (6.81) Positive control 16.73 (8.24) (5.25% NaOCl 30 min + 17% EDTA 3 min) SA 0.5%/1 min 15.14 (3.52) SA 0.5%/5 min 25.12 (10.13) SA 0.5%/10 min 24.46 (8.54) SA 5%/1 min 23.64 (10.83) SA 5%/5 min 23.74 (8.01) SA 5%/10 min 31.98 (9.03) NaCl/10 min 15.33 (4.26)	The data were determined and analysed by 1-way analysis of variance and the Duncan test. The statistical significance level was set at $p < 0.05$	Effective
Sariyilmaz et al., 2019 Turkey [27]	dentinal root	Push-out bond strength tests	Control 8.67 ± 3.11 G 1 (NaOCl) 9.15 ± 3.10 G 2 (NaOCl—Sodium thiosulfate) 10.75 ± 2.83 G 3 (CHX) 8.25 ± 2.07 G 4 (CHX—L-alfa-lecithin) 7.49 ± 2.75	The normality of the push-out bond strength data distribution was confirmed with a Shapiro–Wilk test, and the data were analysed by one-way analysis of variance and Tukey multiple comparison tests with the level of significance set at 5%.	Effective

Table 4. Cont.

Authors	Surface to Which Material Was Bonded	Testing Method	Results	Type of Statistical Analysis	Outcomes
Shrestha et al., 2013 China [34]	dentinal root	micro-Raman spectroscopic analysis and micro push-out bond test.	G1. Distilled water 3.70 ± 0.844 G2. 1.3% NaOCl 8.88 ± 1.76 G3. 5.2% NaOCl 9.00 ± 1.90 G4. MTAD 9.28 ± 1.62 G5. 17% EDTA 8.71 ± 1.43 G6. 10% SA 4.03 ± 1.02 G7. 1.3% NaOCl/MTAD 4.05 ± 1.04 G8. 1.3% NaOCl/SA/MTAD 7.15 ± 1.56 G9. 5.2% NaOCl/17% EDTA 9.34 ± 1.83 G10. 5.2% NaOCl/10% SA/17% EDTA 12.52 ± 2.48	The data were normally distributed. Hence, one-way Analysis of variance (ANOVA) was used to test the difference among groups at a 95% confidence interval. Post hoc Tukey's test was performed to compare the difference among the groups.	Effective
Stevens, 2014 USA [29]	dentinal root	μ TBS Test	1. Negative control with Variolink (V) II 18.8 ± 4.2 ; Multilink (M) 29.1 ± 7.1 ; Clearfil Esthetic Cement EX (CECEX) 20.7 ± 4.9 ; SpeedCEM (SCEM) 17.8 ± 4.2 ; Clearfil SA Cement (CSAC) 7.2 ± 2.8 2.6% NaOCl 20 min: V II 24.0 ± 6.7 ; M 34.1 ± 6.1 ; CECEX 20.7 ± 6.8 ; SCCEM 00.0 ± 0.0 ; CSAC 00.1 ± 0.1 3.SA 5 s: SCCEM 8.5 ± 2.6 ; CSAC 4.3 ± 2.0 4.SA 1 min; SCCEM 12.1 ± 3.2 ; CSAC SA Cement 4.8 ± 10 .	Statistical analysis of data was performed with analysis of variance and Tukey post hoc test. The significance level was set at $p < 0.05$.	Neutral
Wang et al., 2019 China [33]	dentinal coronal surface	μ TBS test	Blank control (deionized water) 48.71 Negative control 24.46 (5.25% NaOCl 30 min) PA 5%/1 min 26.62 PA 5%/5 min 35.88 PA 5%/10 min 39.11 PA 10%/1 min 31.25 PA 10%/5 min 41.39 PA 10%/10 min 46.98 PA 15%/1 min 36.50 PA 15%/5 min 48.21 PA 15%/10 min 53.16	microTBS data were analysed using one-way ANOVA and the Write Student–Newman–Keuls test. The confidence interval test was performed to analyse the recovery effect of PA on bond strength to NaOCl-treated dentine. The chi-squared test was used to analyse failure mode distribution. The statistical significance level was set at $\alpha = 0.05$.	Effective
Weston et al., 2007 USA [30]	dentinal root	μ TBS test	1.0.9% NaCl 10 min 23.3 ± 4.9 2. 5.25% NaOCl 10 min 8.3 ± 3.5 3. 10% SA 10 min 29.1 ± 8.9 4. 10% SA 3 min 22.0 ± 7.6 5. 10% SA 1 min 23.8 ± 5.1 6. 20% SA 1 min 23.6 ± 7.3	Three-way analysis of variance was performed using surface treatments (NaCl, NaOCl, or NaOCl/SA) as 1 factor, treatment times and concentration of sodium ascorbate (10% for 10 min, 10% for 1 min, 10% for 3 min, or 20% for 1 min) as the second factor, and location (i.e., cervical, middle, or apical third) as the third factor. Multiple comparison post hoc tests were performed using Tukey's honest significance difference test at $\alpha = 0.05$.	Effective

3.4.1. Bond Strength Testing Method

When testing was performed on the coronal part of the tooth, five studies used the microtensile shear bond test [20,25,26,32,33]. The findings in these studies suggest that dentine is adversely affected by 5.25% NaOCl independently of the exposure time and the application of an antioxidant might have a reversal effect. Bharti et al. [20] demonstrated that the use of any of the three antioxidants (5% sodium ascorbate, 5% alpha-tocopherol, or 5% sodium thiosulfate) during 5 min reversed the effect of sodium hypochlorite when used with the total etch system (Te-Econom Bond). Celik et al. [25] studied the effect of 5.25% NaOCl in combination with three different types of adhesives: a two-step self-etch system (Clearfil SE Bond), two different one-step self-etch adhesives (Clearfil Tri-S Bond and Adper Prompt-L-Pop) as well as an etch and rinse adhesive (AdperSingle Bond 2). Here, the bond strength results were significantly influenced by the application of sodium ascorbate; however, this effect did not appear to be similar in all the adhesive systems used and may depend on their specific composition. Dikmen et al. [26] also studied the effect of NaOCl, NaOCl and EDTA, chlorhexidine, and sodium ascorbate on three different types of adhesive systems: two self-etching (Clearfil SE Bond (Kuraray Medical) and Xeno 3) and a total etch system (Single Bond). Dikmen et al. [26] concluded that the use of 10% sodium ascorbate after treating dentin with NaOCl significantly improved the bond strength of these adhesives. The application of CHX has no significant effect on the μ TBS of the self-etch adhesives (Clearfil SE Bond and Xeno 3) but significantly lowered the bond strength of the total etch adhesive (Single Bond). For all adhesive systems, the EDTA + NaOCl-treated groups showed significantly decreased bond strength values than the control groups. Pimentel-Corrêa et al. [32] concluded that the reversal effects of sodium thiosulfate on the compromised bond strength in NaOCl/EDTA-treated dentin using the total etching adhesive system were found to be satisfactory when applied for 5 min, regardless of the concentration of 0.5% or 5%, and for only 1 min if using a 5% concentration. Nevertheless, the use of 5% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ for 10 min showed the best result. Wang et al. [33] only tested NaOCl and its effects on dentine's bond strength. They used PA in different concentrations at various times and a two-step self-etch adhesive (Clearfil SE Bond). It was concluded that the treatment with 5% PA for more than 5 min or with 10% or 15% PA for more than 1 min improved the microtensile bond strength to NaOCl-treated dentine. The application of PA before an adhesive procedure may immediately restore the compromised bond strength of NaOCl-treated dentine.

Values changed and decreased when testing was performed on the radicular part of the tooth. Likewise, the results indicate that dentine is adversely affected by 5.25% NaOCl independently of the exposure time and that an antioxidant might help to reverse the bond strength. Furuse et al. [31] irrigated roots with a saline solution for 10 min (control), 5.25% NaOCl for 10 min, 5.25% NaOCl for 10 min, and 10% ascorbic acid following the use of 5.25% NaOCl for 10 min and then divided the groups based on the adhesive used: a three-step etch-and-rinse adhesive (Scotchbond Multi-Purpose Plus (SBMP)) or a one-step self-etching adhesive (Xeno III). All posts were cemented with the same dual-cured cement (RelyX ARC) and concluded that the decrease in bond strength after deproteinization is adhesive-dependent. The negative influence in bond strength of the self-etching (Xeno III) adhesive following deproteinization seems to be related to the oxidant effect of the NaOCl solution and the subsequent irrigation with SA may reverse the effect of the deproteinization. Khoroushi et al. [36] treated dentine with 2.5% NaOCl for 1 min and applied three different types of antioxidants (10% RA, 10% HPN, and 10% SA) for 2 min and concluded that NaOCl decreases the bond strength and the use of 10% SA or HPN for 2 min did significantly restore the compromised resin cement bond strength to NaOCl-treated dentin. Morris et al. [28] also studied the effect of NaOCl and an antioxidant (10% SA 10 min) on dentine, but in this case, they also added the effect of an RC-prep (a solution of 15% EDTA, 10% urea, HP and carbowax) and used a self-curing resin (C & B Metabond). They finished the endodontic surfaces after treatment with NaOCl or RC-Prep, decreased their bond strength, and encouraged the use of an antioxidant like 10% SA to restore this effect. Nassar et al. [35]

included the use of 2% CHX in the normal irrigation with 5% NaOCl for 10 min and used SA for 10 min as an antioxidant. It was concluded that the use of CHX after an initial rinse of NaOCl is not enough to prevent the negative effect of NaOCl on the bond strength of the Epiphany SE sealer to dentin. A total of 10% SA might be the best method to counteract this detrimental effect of NaOCl and prevent the reaction between CHX and NaOCl; however, this would add an extra clinical step. In all groups, Stevens [29] used the same type of irrigation (6% NaOCl for 20 min) and only one type of antioxidant (10% SA) at different times (5 s and 1 min) and studied its effect on the five different cements tested. There were five brands of cements (three different types of adhesive systems): Type 1: Total etch technique (Variolink II); Type 2: self-etching, self-adhesive dentin-bonding agent, consisting of Multilink and Clearfil Esthetic Cement EX. (no acid needed); Type 3: self-etching and self-adhesive cements consisting of Speed CEM and Clearfil SA Cement (no adhesive and no acid needed). The cements that showed a decrease in bond strength on NaOCl-treated dentin were tested with two additional dentin treatment protocols in order to evaluate the potential reversal effects of treating the dentin with sodium ascorbate (5 s and 1 min) after NaOCl treatment. It was concluded that the total etch systems and systems with a separate dentin bonding agent were not negatively affected by previous NaOCl exposure. The self-etching, self-adhesive resin cements were negatively affected by NaOCl exposure. For those susceptible resin cements, a rinse with 10% sodium ascorbate provided an immediate restoration of at least 50% of the original bond strength. The efficacy of sodium ascorbate may vary among bonding systems. Finally, Weston et al. [30] demonstrated that 5.25% NaOCl irrigation produced a significant reduction in resin–dentin bond strengths (when using a self-curing resin (C & B Metabond) in dentinal root), but this can be reversed by treatment of at least 10% ascorbate for 1 min.

3.4.2. Pull out Test

Only three studies [21,27,34] used push-out tests and all of them were conducted on the dentinal root part of the tooth. Independently of the type of irrigant and bonding technique, the values were similar to those with the bond strength test in the dentinal root part. Kumar et al. [21] concluded that the use of NaOCl as a final irrigant significantly decreases the dislocation resistance of AH Plus to root canal dentin and that the use of PA and BS as final irrigating solutions reversed the compromised pull-out bond strength of AH Plus to NaOCl-treated dentin. For instance, Sariyilmaz et al. [27], when testing with NaOCl and CHX and their inactivating agents (Sodium thiosulfate and L-alpha-lecithin, respectively), found out that these products had no significant adverse effect on the push-out bond strength of MTA after setting for 10 min. Shrestha et al. [34] concluded that the bond strength of RealSeal SE is adversely affected by NaOCl root canal irrigation; however, the use of 10% sodium ascorbate after NaOCl irrigation can reverse the compromised area. In conclusion, the authors recommended an application of sodium ascorbate between 5.2% NaOCl and EDTA to achieve the highest bond strength.

3.4.3. Failure Mode Outcomes

Failure patterns were reported in six studies, where stereomicroscopy was used in four [21,26,28,31] and Scanning Electron Microscopy (SEM) in two [32,36], and both of them were used to determine the failure pattern and/or fractures in the interfaces. All six studies classified the failures as follows: (1) adhesive: deficiency between the resin/post and the adhesive system/luting cement or between the adhesive system/luting cement and the dentin; (2) cohesive: deficiency within the thickness of dentin or adhesive system; or (3) mixed deficiency associated with luting cement material covering 50% of the post diameter and the luting cement covering 50% of the post surface or if the fracture site continued from the adhesive system into either the resin composite or dentin. The adhesive/mixed failure pattern was predominant in all four studies [21,26,28,31]; however, Morris et al. [28] reported adhesive failures (between the adhesive system and the dentine) as the only cause of failure in the group in which the resin was placed after irrigation

with 5% NaOCl without an antioxidant in between, and there were mixed patterns in the remaining groups.

3.4.4. Other Observation Tests

Two studies [19,24] implemented a dye-penetration test under microscope ($\times 4$) and recorded different types of results: 0—No evidence of dye penetration in the tooth/restoration interface; 1—Slight, only horizontal dye penetration; 2—Moderate, vertical Penetration less than half of the radicular composite restoration; 3—Extensive, vertical Penetration greater than half but less than the total of radicular composite restoration; 4—Gross, Vertical Penetration extending beyond the radicular composite restoration. In the study of Pamir et al.'s [24] study, in group 1 (NaOCl), the maximum number of teeth recorded a score of 4 which is the maximum dye penetration; in group 7 (Saline), the maximum number of teeth registered a score of 0 which is the minimum dye penetration. The use of SA after NaOCl (group 2) and H₂O₂ (group 5) irrigation significantly reduced the microleakage compared with their negative controls. In Bansal et al.'s study [19], extensive leakage was observed with both Prime & Bond NT (PBNT) and Xeno III after NaOCl irrigation (groups 1 and 4) and in PBNT after CHX and povidone-iodine irrigation (groups 2 and 3). Significantly less dye penetration was observed with Xeno III after CHX and povidone-iodine irrigation (groups 5 and 6). SA pretreatment after NaOCl allowed significantly less dye penetration in both PBNT and Xeno III groups (groups 7 and 8) than all other experimental and control groups except group 5 (CHX with Xeno III).

The studies of Nagpal et al. [22] and Nagpal et al. [23] analysed the degree of leakage penetration in two studies. The study of Nagpal et al. [22] found that both the conventional acid-etched groups and the acid-etched NaOCl-treated groups demonstrated extensive leakage. SA treatment of the deproteinized dentin significantly reduced the microleakage in comparison with the conventional acid-etched groups and acid-etched NaOCl-treated groups. Nagpal et al. [23] proved that the antioxidant (PA) treatment after NaOCl and EDTA irrigation significantly decreased microleakage in both adhesive systems.

Shrestha et al. [34] analysed their results with a micro-Raman spectrometer. Three spots on the sealer (2 μm next to the resin-dentin interface) were randomly chosen for Raman analysis and their mean was calculated. The Raman spectra were excited by a 785 nm laser line at a resolution of 1 cm. The laser beam was focused with an optical microscope at $50\times$ magnification with approximately 4.94 mW laser power. All spectra ($1500\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$) were taken with one accumulation of 60 s exposure time and the value for a Degree of Conversion (DC) was calculated with a formula. Results were represented in a graphic display: the group with less degree of conversion was the one treated with NaOCl and the group with the most degree of conversion was the one treated with SA.

3.4.5. Histological Outcomes

In six studies, SEM was used to evaluate the histological characteristics of dentin or the adhesive interface [19,22,23,25,32,36]. In 2010, Bansal et al. [19] detected the presence of gaps along the entire margin of the cavity in the NaOCl-treated groups showing poor adaptation at the resin–dentine interface. Sodium ascorbate application following the application of NaOCl with both adhesive systems revealed excellent adaptation of the resin composite to the cavity. Pretreatment of the cavity with CHX and povidone also showed the presence of a continuous gap and poor adaptation of the resin–dentine interface in both adhesive systems (PBNT and Xeno III), except for the group of CHX in combination with Xeno III that revealed an almost continuous margin and better adaptation of the resin composite to the dentine. Celik et al. [25] demonstrated that there was improved tubular penetration with lateral branches when sodium ascorbate was applied after the NaOCl treatment. Khoroushi et al. [36] reported that there is a much better adaptation between the resin cement and root dentin in groups control and those with the application of an antioxidant (SA and hesperidin). The resin tags in these groups were apparently larger and more numerous. Nagpal et al. [22] reported that Prime & Bond NT showed better

interfacial adaptation, deeper tubular penetration, and filled lateral tubular branches when used after the NaOCl/sodium ascorbate treatment. Nagpal et al. [23] stated that when PA treatment followed the conventional NaOCl and EDTA irrigation regimen, an excellent interfacial adaptation without gap was observed for both adhesives with pulpal dentin. Pimentel Corrêa et al. [32] revealed that adhesive failure was the most common fracture pattern observed regardless of the experimental condition.

4. Discussion

This systematic literature review was directed to gather and analyse the available evidence of in vitro studies on the effect of antioxidants of different kinds on dentin exposed to the effects of different types of irrigants and its following adhesive restoration.

Considering the quality evaluation in relation to the studies available, very few [20,26] scored a low risk of bias, and this exposes the quality of the evidence generated by this systematic review. Unfortunately, because of this lack of published research on low bias, the present study takes into account the medium and high risk of biased documents; hence, the results should be considered with caution.

The purpose of this systematic review was to analyse the effects of antioxidants after the use of irrigants on dentine. According to most studies [19–28,30–36], antioxidants can improve bond strength following the use of the most frequently used irrigants in root canal treatments.

The use of antioxidants to improve the adhesive union of final restorations has increased recently [37]. Various antioxidants in different concentrations and times have been proposed in recent years [38–46]. Feiz et al. [37] showed in their systematic review that the adverse effect of bleaching agents on shear bond strength may be reversed by all antioxidants. In this systematic review, in which the effect of antioxidants on bleached dentine was analysed, it was also concluded that a one-week delay before using the restorative materials can be as effective as using antioxidants in the majority of cases.

We found a wide variety of antioxidants among the queried studies. Sodium ascorbate (SA) was the most used in different concentrations (5%, 10%, 20%, 35%) [44,47–49], but oligomeric proanthocyanidin complexes (OPCs), present in grape seed extracts [40,42,43,49–52] and pomegranate peel extract [43,49], green tea [19,43,53–57], alpha-tocopherol [52], aloe vera [41,43,51], and lycopene [40] were also used. The antioxidant considered to be the gold standard is SA and, in most studies, it is used by itself or in the comparison of its effect with other antioxidants [14].

The irrigation protocols also varied among studies. Irrigation with NaOCl between 2% and 5% could be observed in different exposure times as well as combinations with 17% EDTA, which makes it difficult to determine a conclusion, whereas the effect of the decrease on bond strength is due to a combination of products, exposure time, or its concentration.

Several restoration strategies and different testing methods were used in this systematic review. If data were evaluated with the same techniques and methods, more consistent results could be obtained, providing assistance for the clinician with proof-based decision-making.

Regarding restoration strategies, several studies focused on the dentine in the pulp chamber region (coronal dentine) where all of them tested the composite resin materials. These studies [19,20,22,23,25,32,33] combined bond strength with observational tests. Four out of seven studies [20,25,32,33] used a bond strength test to analyse the results combining it with or without observational tests, whereas three out of seven studies [19,22,23] only used observational tests. Regardless of the study conditions, all studies except one [29] concluded that the use of an antioxidant after being treated with NaOCl revealed an excellent adaptation of composite resins to dentinal walls in the observational tests and better parameters in the bond strength tests. Stevens et al. [29] considered that providing an adhesive strength with a minimum of 50% of the original bond strength with a rinse of 10% sodium ascorbate was not enough to consider it effective.

When testing was performed on the coronal part of the dentine, all studies used a composite resin for the restoration [19,20,22,23,25,26,32,33]. Another factor that could be analysed as a potential reason for the risk of bias is the type of adhesive system. There were different types of adhesive systems used to bond the composite resin which produced different results, but it looks like the deproteinization of the dentin due to NaOCl exposure equally affects all types of adhesives. However, antioxidants can restore the bond strength in all of them. There is no clear evidence about how the effect of other irrigants (such as CHX) would affect the bond strength of the diverse types of adhesive solutions. There is neither enough evidence about how the type of irrigant and the use of an antioxidant may be affected by the different adhesive systems available. More clear scientific evidence is required. Celik et al. [25] studied the effect of 5.25% NaOCl in combination with three different types of adhesives: a two-step self-etch system (Clearfil SE Bond), two different one-step self-etch adhesives (Clearfil Tri-S Bond and Adper Prompt-L-Pop) and an etch and rinse adhesive (AdperSingle Bond 2). Here, the application of sodium ascorbate significantly influenced the bond strength results, but this effect did not seem to be alike in all the adhesive systems utilized and may depend on their specific composition. Dikmen et al. [26] also studied three different types of adhesive systems: two self-etching (Clearfil SE Bond (Kuraray Medical) and Xeno 3) and a total etch system (Single Bond). Dikmen et al. [26] determined that the use of 10% sodium ascorbate after treating dentin with NaOCl improved, in a significant way, the bond strength of these adhesives, but when CHX is used as an irrigant, it has no significant effect on the μ TBS of self-etch adhesives (Clearfil SE Bond and Xeno 3) but notoriously decreased the bond strength of the whole etch adhesive (Single Bond). Thus, the type of irrigant protocol might depend on the type of adhesive system used to restore the composite resin. Pimentel-Corrêa et al. [32] used a total etching adhesive system and found it to be acceptable when applied for 5 min, regardless of its concentration. Wang et al. [33] used a two-step self-etch adhesive (Clearfil SE Bond) and determined that the application of PA before an adhesive procedure may immediately restore the compromised bond strength of NaOCl-treated dentine.

When testing is carried out in the root dentine, the restorative technique varies even more. Two studies [31,36] cemented posts to study its union. Furuse et al. [31] cemented posts with the same dual-cured cement (RelyX ARC) and two different types of adhesive solutions: a three-step etch-and-rinse adhesive (Scotchbond Multi-Purpose Plus (SBMP)) or a one-step self-etching adhesive (Xeno III). Furuse et al. [31] concluded the negative effect of deproteinization is adhesive-dependent and has an adverse effect only upon the self-etching adhesive, but it can be reversed by the application of an antioxidant (SA 10% 10 min). Khoroushi et al. [36] also cemented posts with a self-adhesive resin cement (Bifix SE, Voco) and concluded the self-adhesive is negatively affected by the deproteinization of the NaOCl but its effects can be restored with the use of an antioxidant during 2 min (SA, HPN, and RA, in this case). Kumar et al. [21] used an epoxy resin-based sealer, AH Plus, and determined that the use of NaOCl as a final irrigant significantly decreases the dislocation resistance of AH Plus to root canal dentin but that the use of an antioxidant (PA and BS) as final irrigating solution reverses the situation. Morris et al. [28] filled the root canal space with a self-curing resin (C & B Metabond) that saw its bond strength decrease after the irrigation of NaOCl but the antioxidants (SA) helped reverse the situation. Nassar et al. [35] injected an Epiphany SE sealer into the root canal and we can extract from their study that apparently, the use of CHX after an initial rinse of NaOCl is not sufficient to counteract the adverse effect of NaOCl on the bond strength of the Epiphany SE sealer to dentin. Moreover, they suggest that the application of SA might be the most appropriate method to reverse this detrimental effect of NaOCl and avoid the reaction between CHX and NaOCl. Pamir et al. [24] used a resin composite (Ceram-X mono) and observed higher leakage scores in NaOCl and HP groups that could be reverted with the application of an antioxidant (SA). Sariyilmaz et al. [27] used MTA and could not show that deproteinization negatively affected the union of MTA to dentine; however, the application of an antioxidant could help increase the bond strength of this material.

Stevens [29] used five types of cements: a total etch technique (Variolink II); two self-etching, self-adhesive dentin-bonding agents, consisting of Multilink and Clearfil Esthetic Cement EX; and two self-etching and self-adhesive cements consisting of SpeedCEM and Clearfil SA Cement. The five resin cements used differed in their immediate shear bond strength to NaOCl-treated dentin. Previous NaOCl exposure did not affect in a negative way the total etch solutions and solutions with a separate dentin bonding agent. The self-etching, self-adhesive resin cements were negatively affected by NaOCl exposure but for those susceptible resin cements, a rinse of 10% sodium ascorbate improved the bond strength, but not up to values of the control group. Weston et al. [30] used a self-curing resin (C & B Metabond) and concluded it was sensitive to pretreatment with NaOCl, decreasing its bond strength values, but using an antioxidant irrigation improved its bond strength.

When testing in the radicular part of the tooth, there are not two single studies that reproduce the same restorative conditions. Most of them conclude that NaOCl negatively affects the union of the restorative material [21,24,28,31,35,36] and that the use of an antioxidant [21,24,27,28,30,31,35,36] helps increase the union of the final restorative material to the radicular dentin. These results are supported by Baruwā et al.'s study [58] which suggests that the best method to increase the bond strength of posts in dentine would be a combination of NaOCl, citric acid, and final irrigation of CHX. These authors expose that a final rinse with CHX to improve the final bond strength should be convenient. The studies that compared different types of adhesive systems [29,31,35] concluded that the negative effect of deproteinization is adhesive-dependent and affects mostly self-adhesive systems. This could also be supported by Weston et al.'s study [30], which does not compare different types of adhesive systems by does observe that there is a decrease in the bond strength of its self-curing cement after the pretreatment with NaOCl.

5. Conclusions

Considering the limitations of this systematic review (only two studies included in the systematic review scored a low risk of bias and there is huge heterogeneity among the studies), the consequences for clinical practice included in the literature were the following:

1. The deproteinization caused by the NaOCl in irrigating protocols in endodontic procedures affects the immediate and long-term bond strength when using an adhesive system;
2. The decrease in bond strength and adhesion in dentin may be restored using an antioxidant agent;
3. The use of an antioxidant such as 10% sodium ascorbate may be established as a proper agent to enhance the bond strength of the endodontically treated teeth;
4. The negative effect of deproteinization is adhesive-dependent and affects mostly self-adhesive systems, but additional efforts will be required to determine which type of adhesive system would be of the best election.

Author Contributions: Conceptualization, R.G. and L.F.; methodology, R.G.; software, R.G.; validation, R.G. and L.F.; formal analysis, R.G.; investigation, R.G.; resources, C.L. and L.F.; data curation, R.G. and L.F.; writing—original draft preparation, R.G.; writing—review and editing, R.G. and L.F.; visualization, R.G. and L.F.; supervision, C.L. and L.F.; project administration, C.L. and L.F. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Data sharing not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Abuhaimeed, T.S.; Abou Neel, E.A. Sodium Hypochlorite Irrigation and Its Effect on Bond Strength to Dentin. *Biomed. Res. Int.* **2017**, *2017*, 1930360. [\[CrossRef\]](#)
2. Haapasalo, M.; Shen, Y.; Qian, W.; Gao, Y. Irrigation in endodontics. *Dent. Clin. N. Am.* **2010**, *54*, 291–312. [\[CrossRef\]](#)
3. Josic, U.; Mazzitelli, C.; Maravic, T.; Fidler, A.; Breschi, L.; Mazzoni, A. Biofilm in Endodontics: In Vitro Cultivation Possibilities, Sonic-, Ultrasonic- and Laser-Assisted Removal Techniques and Evaluation of the Cleaning Efficacy. *Polymers* **2022**, *14*, 1334. [\[CrossRef\]](#)
4. Siqueira, J.F., Jr.; Machado, A.G.; Silveira, R.M.; Lopes, H.P.; de Uzeda, M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. *Int. Endod. J.* **1997**, *30*, 279–282. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Saber, S.E.; El-Askary, F.S. The outcome of immediate or delayed application of a single-step self-etch adhesive to coronal dentin following the application of different endodontic irrigants. *Eur. J. Dent.* **2009**, *3*, 83–89. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Nikaido, T.; Takano, Y.; Sasafuchi, Y.; Burrow, M.F.; Tagami, J. Bond strengths to endodontically-treated teeth. *Am. J. Dent.* **1999**, *12*, 177–180.
7. López-Luján, N.A.; Munayco-Pantoja, E.R.; Torres-Ramos, G.; Blanco-Victorio, D.J.; Siccha-Macassi, A.; López-Ramos, R.P. Deproteinization of primary enamel with sodium hypochlorite before phosphoric acid etching. *Acta Odontol. Latinoam.* **2019**, *32*, 29–35. [\[PubMed\]](#)
8. Khoroushi, M.; Najafabadi, M.A.; Feiz, A. Effects of Calcium Hypochlorite and Sodium Hypochlorite, as Root Canal Irrigants, on the Bond Strength of Glass Fiber Posts Cemented with Self-Adhesive Resin Cement. *Front. Dent.* **2019**, *16*, 214–223. [\[CrossRef\]](#)
9. Uysal, T.; Ertas, H.; Sagsen, B.; Bulut, H.; Er, O.; Ustidal, A. Can intra-coronally bleached teeth be bonded safely after antioxidant treatment? *Dent. Mater. J.* **2010**, *29*, 47–52. [\[CrossRef\]](#)
10. Vongphan, N.; Senawongse, P.; Somsiri, W.; Harnirattisai, C. Effects of sodium ascorbate on microtensile bond strength of total-etching adhesive system to NaOCl treated dentine. *J. Dent.* **2005**, *33*, 689–695. [\[CrossRef\]](#)
11. Prasansuttiorn, T.; Nakajima, M.; Kunawarote, S.; Foxton, R.M.; Tagami, J. Effect of reducing agents on bond strength to NaOCl-treated dentin. *Dent. Mater.* **2011**, *27*, 229–234. [\[CrossRef\]](#)
12. Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Akl, E.A.; Brennan, S.E.; et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* **2021**, *29*, n71. [\[CrossRef\]](#)
13. Moher, D.; Liberati, A.; Tetzlaff, J.; Altman, D.; Group, P. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *J. Clin. Epidemiol.* **2009**, *62*, 1006–1012. [\[CrossRef\]](#)
14. Rodríguez-Barragüé, J.; Vola-Gelmini, J.; Skuras-Siedenburg, M.; Rivera-Gonzaga, J.A.; Cuevas-Suarez, C.E. Natural antioxidants to restore immediate bond strength to bleached enamel: Systematic review and meta-analysis of in vitro studies. *J. Esthet. Restor. Dent.* **2021**, *33*, 702–712. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Sarkis-Onofre, R.; Skupien, J.A.; Cenci, M.S.; Moraes, R.R.; Pereira-Cenci, T. The role of resin cement on bond strength of glass-fiber posts luted into root canals: A systematic review and meta-analysis of in vitro studies. *Oper. Dent.* **2014**, *39*, 31–44. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Lenzi, T.L.; Gimenez, T.; Tedesco, T.K.; Mendes, F.M.; de Oliveira Rocha, R.; Raggio, D.P. Adhesive systems for restoring primary teeth: A systematic review and meta-analysis of in vitro studies. *Int. J. Paediatr. Dent.* **2016**, *26*, 364–375. [\[CrossRef\]](#)
17. Krithikadatta, J.; Gopikrishna, V.; Datta, M. CRIS Guidelines (Checklist for Reporting In-vitro Studies): A concept note on the need for standardized guidelines for improving quality and transparency in reporting in-vitro studies in experimental dental research. *J. Conserv. Dent.* **2014**, *17*, 301–304. [\[CrossRef\]](#)
18. Romano, F.L.; Ambrosano, G.M.; Magnani, M.B.; Nouer, D.F. Analysis of the coefficient of variation in shear and tensile bond strength tests. *J. Appl. Oral. Sci.* **2005**, *13*, 243–246. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Bansal, S.; Tewari, S. Ex vivo evaluation of dye penetration associated with various dentine bonding agents in conjunction with different irrigation solutions used within the pulp chamber. *Int. Endod. J.* **2008**, *41*, 950–957. [\[CrossRef\]](#)
20. Bharti, R.; Chandra, A. Comparative evaluation of different antioxidants on reversal of microtensile bond strength of composite resin in endodontically treated tooth surface. *J. Clin. Diagn. Res.* **2021**, *15*, 43–46. [\[CrossRef\]](#)
21. Kumar, P.S.; Meganathan, A.; Shriram, S.; Sampath, V.; Sekar, M. Effect of proanthocyanidin and bamboo salt on the push-out bond strength of an epoxy resin sealer to sodium hypochlorite-treated root dentine: An in vitro study. *J. Conserv. Dent.* **2019**, *22*, 144–148. [\[PubMed\]](#)
22. Nagpal, R.; Tewari, S.; Gupta, R. Effect of various surface treatments on the microleakage and ultrastructure of resin-tooth interface. *Oper. Dent.* **2007**, *32*, 16–23. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Nagpal, R.; Manuja, N.; Pandit, I.K. Effect of proanthocyanidin treatment on the bonding effectiveness of adhesive restorations in pulp chamber. *J. Clin. Pediatr. Dent.* **2013**, *38*, 49–53. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Pamir, T.; Türkün, M.; Kaya, A.D.; Sevgican, F. Effect of antioxidant on coronal seal of dentin following sodium-hypochlorite and hydrogen-peroxide irrigation. *Am. J. Dent.* **2006**, *19*, 348–352.
25. Celik, C.; Erkut, S.; Gulsahi, K.; Yamanel, K.; Kucukesmen, C. Effect of sodium ascorbate on bond strength of different adhesive systems to NaOCl-treated dentin. *Aust. Endod. J.* **2010**, *36*, 12–18. [\[CrossRef\]](#)

26. Dikmen, B.; Tarim, B. The effect of endodontic irrigants on the microtensile bond strength of different dentin adhesives. *Niger. J. Clin. Pract.* **2018**, *21*, 280–286.
27. Sariyilmaz, E.; Sivas Yilmaz, Ö.; Keskin, C.; Keleş, A. Effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine irrigating solutions and their inactivating agents on the push-out bond strength of mineral trioxide aggregate. *Biomed. Mater. Eng.* **2019**, *30*, 279–285. [\[CrossRef\]](#)
28. Morris, M.D.; Lee, K.W.; Agee, K.A.; Bouillaguet, S.; Pashley, D.H. Effects of sodium hypochlorite and RC-prep on bond strengths of resin cement to endodontic surfaces. *J. Endod.* **2001**, *27*, 753–757. [\[CrossRef\]](#)
29. Stevens, C.D. Immediate shear bond strength of resin cements to sodium hypochlorite-treated dentin. *J. Endod.* **2014**, *40*, 1459–1462. [\[CrossRef\]](#)
30. Weston, C.H.; Ito, S.; Wadgaonkar, B.; Pashley, D.H. Effects of time and concentration of sodium ascorbate on reversal of NaOCl-induced reduction in bond strengths. *J. Endod.* **2007**, *33*, 879–881. [\[CrossRef\]](#)
31. Furuse, A.Y.; Cunha, L.F.; Baratto, S.P.; Leonardi, D.P.; Haragushiku, G.A.; Gonzaga, C.C. Bond strength of fiber-reinforced posts to deproteinized root canal dentin. *J. Contemp. Dent. Pract.* **2014**, *15*, 581–586. [\[CrossRef\]](#)
32. Pimentel-Corrêa, A.C.; Cecchin, D.; de Almeida, J.F.; Gomes, B.P.; Zaia, A.A.; Ferraz, C.C. Sodium Thiosulfate for Recovery of Bond Strength to Dentine Treated with Sodium Hypochlorite. *J. Endod.* **2016**, *42*, 284–288. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Wang, Y.; Chen, C.; Zang, H.L.; Liang, Y.H. The recovery effect of proanthocyanidin on microtensile bond strength to sodium hypochlorite-treated dentine. *Int. Endod. J.* **2019**, *52*, 371–376. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Shrestha, D.; Wu, W.C.; He, Q.Y.; Wei, X.; Ling, J.Q. Effect of sodium ascorbate on degree of conversion and bond strength of RealSeal SE to sodium hypochlorite treated root dentin. *Dent. Mater. J.* **2013**, *32*, 96–100. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Nassar, M.; Awawdeh, L.; Jamleh, A.; Sadr, A.; Tagami, J. Adhesion of Epiphany self-etch sealer to dentin treated with intracanal irrigating solutions. *J. Endod.* **2011**, *37*, 228–230. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Khoroushi, M.; Kachuei, M. Pull-out bond strength of a self-adhesive resin cement to NaOCl-treated root dentin: Effect of antioxidantizing agents. *Restor. Dent. Endod.* **2014**, *39*, 95–103. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Feiz, A.; Mosleh, H.; Nazeri, R. Evaluating the effect of antioxidant agents on shear bond strength of tooth-colored restorative materials after bleaching: A systematic review. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2017**, *71*, 156–164. [\[CrossRef\]](#)
38. Sasaki, R.T.; Flório, F.M.; Basting, R.T. Effect of 10% sodium ascorbate and 10% alpha-tocopherol in different formulations on the shear bond strength of enamel and dentin submitted to a home-use bleaching treatment. *Oper. Dent.* **2009**, *34*, 746–752. [\[CrossRef\]](#)
39. Vidhya, S.; Srinivasulu, S.; Sujatha, M.; Mahalaxmi, S. Effect of grape seed extract on the bond strength of bleached enamel. *Oper. Dent.* **2011**, *36*, 433–438. [\[CrossRef\]](#)
40. Arumugam, M.T.; Nesamani, R.; Kittappa, K.; Sanjeev, K.; Sekar, M. Effect of various antioxidants on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel: An in vitro study. *J. Conserv. Dent.* **2014**, *17*, 22–26.
41. Kadiyala, A.; Saladi, H.K.; Bollu, I.P.; Burla, D.; Ballullaya, S.V.; Devalla, S.; Maroli, S.; Jayaprakash, T. Effect of Different Antioxidants on Shear Bond Strength of Composite Resins to Bleached Human Enamel. *J. Clin. Diagn. Res.* **2015**, *9*, 40–43.
42. Subramonian, R.; Mathai, V.; Christaine Angelo, J.B.; Ravi, J. Effect of three different antioxidants on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel: An in vitro study. *J. Conserv. Dent.* **2015**, *18*, 144–148. [\[PubMed\]](#)
43. Sharafeddin, F.; Farshad, F. The Effect of Aloe Vera, Pomegranate Peel, Grape Seed Extract, Green Tea, and Sodium Ascorbate as Antioxidants on the Shear Bond Strength of Composite Resin to Home-bleached Enamel. *J. Dent.* **2015**, *16*, 296–301.
44. Briso, A.L.; Rahal, V.; Sundfeld, R.H.; dos Santos, P.H.; Alexandre, R.S. Effect of sodium ascorbate on dentin bonding after two bleaching techniques. *Oper. Dent.* **2014**, *39*, 195–203. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Khosravanifard, B.; Rakhshan, V.; Araghi, S.; Parhiz, H. Effect of Ascorbic Acid on Shear Bond Strength of Orthodontic Brackets Bonded with Resin-modified Glass-ionomer Cement to Bleached Teeth. *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospect.* **2012**, *6*, 59–64.
46. Feiz, A.; Khoroushi, M.; Gheisarifar, M. Bond strength of composite resin to bleached dentin: Effect of using antioxidant versus buffering agent. *J. Dent.* **2011**, *8*, 60–66.
47. Boruziniat, A.; Atoufi, A.; Chehrel, Z.; Akbari, M.; Gifani, M. Effect of Non-Vital Bleaching on the Durability of Resin-Dentin Bond with an Ethanol-Based Etch-And-Rinse Adhesive. *Biomimetics* **2018**, *3*, 35. [\[CrossRef\]](#)
48. Dabas, D.; Patil, A.C.; Uppin, V.M. Evaluation of the effect of concentration and duration of application of sodium ascorbate hydrogel on the bond strength of composite resin to bleached enamel. *J. Conserv. Dent.* **2011**, *14*, 356–360. [\[CrossRef\]](#)
49. Mukka, P.K.; Komineni, N.K.; Pola, S.; Soujanya, E.; Karne, A.R.; Nenavath, B.; Shiva, S.; Vuppunuthula, P. An In-vitro Comparative Study of Shear Bond Strength of Composite Resin to Bleached Enamel using three Herbal Antioxidants. *J. Clin. Diagn. Res.* **2016**, *10*, 89–92. [\[CrossRef\]](#)
50. Xu, Y.; Zhou, J.; Tan, J. Use of grape seed extract for improving the shear bond strength of total-etching adhesive to bleached enamel. *Dent. Mater. J.* **2018**, *37*, 325–331. [\[CrossRef\]](#)
51. Nair, R.; Bandhe, S.; Ganorkar, O.K.; Saha, S.; Sial, S.; Nair, A. A comparative evaluation of the three different antioxidant treatments on the bond strength of composite resin to bleached enamel: An in vitro study. *J. Conserv. Dent.* **2019**, *22*, 82–86. [\[PubMed\]](#)
52. Gogia, H.; Taneja, S.; Kumar, M.; Soi, S. Effect of different antioxidants on reversing compromised resin bond strength after enamel bleaching: An in vitro study. *J. Conserv. Dent.* **2018**, *21*, 100–104. [\[PubMed\]](#)

53. De Carvalho, H.C.; Guiraldo, R.D.; Poli-Frederico, R.C.; Maciel, S.M.; Moura, S.K.; Lopes, M.B.; Berger, S.B. Correlation between antioxidant activity and bonding strength on bleached enamel. *Acta Biomater. Odontol. Scand.* **2016**, *2*, 102–107. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Berger, S.B.; De Souza Carreira, R.P.; Guiraldo, R.D.; Lopes, M.B.; Pavan, S.; Giannini, M.; Bedran-Russo, A.K. Can green tea be used to reverse compromised bond strength after bleaching? *Eur. J. Oral. Sci.* **2013**, *121*, 377–381. [[CrossRef](#)]
55. Khamverdi, Z.; Khadem, P.; Soltanian, A.; Azizi, M. In-Vitro Evaluation of the Effect of Herbal Antioxidants on Shear Bond Strength of Composite Resin to Bleached Enamel. *J. Dent.* **2016**, *13*, 244–251.
56. Ozelin, A.A.; Guiraldo, R.D.; Carvalho, R.V.; Lopes, M.B.; Berger, S.B. Effects of green tea application time on bond strength after enamel bleaching. *Braz. Dent. J.* **2014**, *25*, 399–403. [[CrossRef](#)]
57. Rana, R.; Kaushik, M.; Sharma, R.; Reddy, P.; Mehra, N. Comparative evaluation of effects of natural antioxidants on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel. *Indian J. Dent. Res.* **2019**, *30*, 112–116.
58. Baruwa, A.O.; Mazzitelli, C.; Maravic, T.; Martins, J.N.R.; Mazzoni, A.; Ginjeira, A. In Situ Zymography Analysis of Matrix Metalloproteinases Activity Following Endodontic Irrigation Protocols and Correlation to Root Dentine Bond Strength. *Polymers* **2022**, *14*, 3567. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.