

Pengaruh *Pre-Treated* Dentin Menggunakan Flavonoid Dan Agen Remineralisasi Yang Berbeda

Shahnaz Dwi Permata Putri

Departemen Ilmu Material Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia, Indonesia

Yosi Kusuma Eriwati

Departemen Ilmu Material Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia, Indonesia

ABSTRAK

Resistensi ikatan dentin yang terkena karies dipertanyakan dibandingkan dengan dentin yang sehat. Hal ini disebabkan oleh demineralisasi parsial yang mengakibatkan hilangnya integritas lapisan hibrid oleh enzim kolagenolitik yaitu matrix metalloproteinases (MMPs). Enzim ini bertanggung jawab atas degradasi matriks kolagen pada lapisan hibrida. Berdasarkan hal tersebut, strategi baru telah digunakan di mana penggunaan flavonoid sebagai agen pengikat silang eksogen telah disarankan sebagai metode untuk menghambat aktivitas MMP, seperti Quercetin, Hesperidin, Rutin dan Naringin. Selain itu, dentin yang mengalami demineralisasi parsial diremineralisasi untuk meningkatkan bond strength atau ikatannya menggunakan zat remineralisasi. Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek pre-treated dentin menggunakan berbagai flavonoid dan agen remineralisasi. Efek pre-treated dentin yang akan dibahas dalam review ini baik dengan flavonoid, agen remineralisasi maupun penggunaannya secara bersamaan. Simpulan: Efek pre-treated dentin menggunakan berbagai flavonoid dan agen remineralisasi dapat meningkatkan tensile bond strength resin-dentin.

Kata kunci: Flavonoid, Remineralisasi, Ikatan Dentin

The Effect Of Pre-Treated Dentin Using Different Flavonoid And Remineralizing Agents

ABSTRACT

The bond resistance of caries-affected dentin is questionable compared to healthy dentin. This is caused by partial demineralization resulting in loss of integrity of the hybrid layer by collagenolytic enzymes, namely matrix metalloproteinases (MMPs). This enzyme is responsible for the degradation of the collagen matrix in the hybrid layer. Based on this, new strategies have been used in which the

Korespondensi:

Shahnaz Dwi Permata Putri

E-mail: dwipershahnaz@gmail.com

use of flavonoids as exogenous crosslinking agents has been suggested as a method to inhibit MMP activity, such as Quercetin, Hesperidin, Rutin and Naringin. In addition, partially demineralized dentine is remineralized to improve its mechanical or bonding properties using a remineralizing agent. Purpose: This study aims to evaluate the effect of pre-treatment of dentin using various flavonoids and remineralizing agents. The effects of pre-treated dentin will be discussed in this review both with flavonoids, remineralizing agents and their use together. Conclusion: The effect of pre-treated dentin using various flavonoids and remineralizing agents can increase the strength of the resin-dentin bond.

Keywords: Flavonoid, Remineralization, Dentin Bond

LATAR BELAKANG

Perkembangan pada material restoratif adhesi sangat pesat baik secara teknik maupun bahan yang digunakan sehingga mekanisme ikatan dentin dan antarmuka resin-dentin masih terus dipelajari.¹ Terjadinya ikatan antarmuka resin-dentin dipengaruhi oleh lapisan hybrid, yang berupa resin yang menembus jaringan kolagen dentin. Namun, kekuatan dan stabilitas dari ikatan tersebut masih menjadi permasalahan, terutama pada *caries affected dentin* (CAD) sehingga dapat menghasilkan penurunan pada kekuatan ikatan dan peningkatan kebocoran nano pada restorasi.²

Mekanisme pembentukan lapisan hybrid terjadi ketika dilakukan pengaplikasian bahan adhesif pada permukaan dentin. Monomer adhesif akan berinfiltrasi dan membentuk *mechanical-interlocking* dengan fibril kolagen yang telah terpapar karena aplikasi etsa asam.^{3,4} Pada *caries affected dentin* (CAD) jika dibandingkan dengan dentin sehat, memiliki struktur *smear layer* yang berbeda, yaitu memiliki kandungan komponen organik atau mineral yang lebih banyak, kolagen yang tidak beraturan dan lebih tebal sehingga infiltrasi monomer adhesif menjadi lebih sulit.^{5,6}

Terjadinya infiltrasi monomer yang tidak lengkap akan meninggalkan fibril kolagen yang tetap terbuka dan porositas yang tidak terlindungi oleh lapisan hybrid dan menghasilkan *nanoleakage* dan

demineralisasi parsial dentin. Hal itu menyebabkan cairan rongga mulut dan produk asam oleh bakteri karies seperti *Streptococcus mutans* dapat masuk dan memfasilitasi aktivitas enzim kolagenolitik, yaitu matrix metalloproteinases (MMPs) yang berpartisipasi dalam hidrolisis fibril kolagen. Kolagen tersebut menjadi rentan terhadap terjadinya degradasi matrix pada antarmuka resin-dentin dari waktu ke waktu dikarenakan rusaknya integritas struktural dan stabilitas ikatan dentin, sehingga akan menurunkan kekuatan ikatan pada restorasi.^{1,10,11} Oleh karena itu, metode untuk memodifikasi teknik dan material adhesif, untuk meningkatkan umur lapisan hybrid, harus terus dipelajari.

Telah dikembangkan modifikasi terbaru untuk meningkatkan stabilitas dan kekuatan ikatan dentin, yaitu menggunakan *cross-linking agent* eksogen berupa inhibitor MMP untuk menghambat enzim MMPs yang dilepaskan oleh dentinoblas di dalam jaringan serat kolagen. Bahan ini dapat diaplikasikan sesudah pengetsaan dan sebelum aplikasi material adhesif pada dentin yang demineralisasi.^{12,13} Salah satu *cross-linking agent* yang dapat digunakan adalah flavonoid yang juga telah dipelajari secara luas dalam kedokteran gigi karena memiliki aktivitas bakterisidal, antioksidan, dan farmakologisnya, seperti hesperidin, proanthocyanidin, quercetin, rutin, dan naringin. Flavonoid sendiri merupakan

sekelompok zat alami dengan berbagai struktur polifenol. Subkelas utama dari flavonoid (anthocyanidins), flavan-3-ols, flavonols, flavanones, flavones, dan isoflavones.¹⁴

Selain menghambat sintesis enzim MMPs, dapat dilakukan remineralisasi matriks kolagen dentin yang telah terdemineralisasi sebagian pada lapisan hibrid, untuk dapat memperbaiki lingkungan struktural lapisan hibrid, dan meningkatkan daya rekat restorasi resin ke dentin melalui pemberian agen remineralisasi biomimetik.¹⁵ Dengan terbentuknya mineral apatit pada matriks dentin yang terdemineralisasi dapat mencegah terdegradasinya serat kolagen oleh enzim kolagenolitik.¹⁶

Telah dilakukan beberapa penelitian baik menggunakan berbagai macam flavonoid sebagai *cross-linking agent*, agen remineralisasi maupun penggunaan keduanya secara bersamaan yang dilakukan untuk pra-perawatan pada dentin sebelum dilakukan pengaplikasian bahan adhesif. Review ini bertujuan untuk mengevaluasi efek *pre-treated* dentin menggunakan berbagai flavonoid dan agen remineralisasi.

TELAAH PUSTAKA

Penelitian mengenai pengaplikasian berbagai macam flavonoid sebagai *crosslinker* telah banyak dilakukan, pada pre-treatment dentin baik hanya menggunakan flavonoid saja maupun telah digabungkan ke dalam bahan primer. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Jeevania, *et al.* (2014) dan Davila, *et al.* (2021) melakukan *pretreatment* pada dentin dengan menggunakan beberapa macam flavonoid untuk melihat efek terhadap μ TBS dan sifat nanomekanisnya. Hasilnya menunjukkan bahwa pada semua jenis flavonoid (HES, QUE, NAR, RUT, dan PRO) terdapat peningkatan sifat mekanik μ TBS pada dentin demineralisasi (proanthocyanidin > quercetin > naringin).^{17,18}

Penggabungan flavonoid dengan bahan primer adhesif dalam *pretreatment* dentin juga telah dilakukan oleh Islam, *et al.* (2014) dengan konsentrasi hesperidin yang berbeda. Konsentrasi hesperidin

sebanyak 2% yang digabungkan ke dalam primer SE menghasilkan TBS yang lebih baik dibandingkan pada penggunaan primer SE murni.¹⁹ Lalu penelitian oleh Sahadi, *et al.* (2023) menggunakan Kaempferol dan Naringin dengan perbedaan konsentrasi dan waktu pemaparan (30 detik dan 60 detik), juga menghasilkan μ TBS yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol.²⁰

Selain itu, penelitian menggunakan agen remineralisasi juga telah dilakukan oleh Kim, *et al.* (2020) menggunakan *calcium phosphate ion clusters* (CPICs) atau *metastable* Ca-P menghasilkan remineralisasi biomimetik dan meningkatkan μ TBS.²¹ Alagha (2020) menggunakan berbagai macam agen remineralisasi, seperti nano hidroksiapatit, natrium fluorida, dan fluorohidroksiapatit pada penelitiannya. Hasilnya adalah fluorohidroksiapatit dan nanohidroksiapatit memiliki efek positif pada mikro-SBS hingga dentin, tetapi natrium fluorida memiliki efek negatif.²²

Paik, *et al.*, (2022) melakukan penelitian dengan menggabungkan flavonoid dan agen remineralisasi berupa *calcium phosphate ion clusters* (CPIC) untuk *pretreated* dentin. Flavonoid yang digunakan berupa icaritin (ICT), fisetin (FIS), silibinin (SIB), yang menghasilkan peningkatan signifikan pada *microtensile bond strength* pada dentin.²³

PEMBAHASAN

Menstabilkan fibril kolagen dalam dentin yang terbuka oleh penggunaan etsa asam dapat menjadi metode untuk mengurangi degradasi oleh enzim MMPs, yang berupa proses kompleks di mana komponen resin dan kolagen terhidrolisis. Enzim MMPs disekresikan ke dalam matriks ekstraseluler (ECM) dalam bentuk proenzim yang tidak aktif dan mendegradasi komponen matriks pada lingkungan dengan pH rendah.⁹ Dengan prosedur pengetsaan dengan asam, MMPs dapat diekspos dan menjadi MMP-2, -3, -8, -9, dan -20 serta kathepsin 4 dan 5 dalam bentuk aktif.^{7,9} Pada *Caries Affected Dentin* (CAD), kolagen tipe I di dalam dentin mengalami kehilangan mineral dikarenakan telah terjadi demineralisasi matriks dentin

sehingga kolagen yang terbuka rentan terhadap berbagai enzim kolagenolitik eksogen yang menghasilkan kerusakan kolagen dimediasi enzim. Restorasi pada CAD menjadi lebih sulit karena dentin lemah sehingga terjadi degradasi ikatan dini dan lepasnya restorasi.^{5,6,21}

Flavonoid sebagai *crosslinker* memiliki gugus fenil hidroksil bebas dapat membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karbonil dari molekul fibril kolagen. Protease MMPs dapat mendegradasi jaringan kolagen dengan berikatan dengan molekul pada kolagen sehingga ikatan rantainya akan terlepas. Dengan berikatan pada gugus fenil flavonoid, rantai polipeptida kolagen menjadi kaku atau menciptakan ikatan peptida baru sehingga menonaktifkan situs katalitik protease.²⁴ Selain itu, selama proses pembentukan ikatan hidrogen, molekul flavonoid dapat menggantikan molekul air yang terikat pada kolagen ekstrasfibrillar.²⁵

Gugus hidroksifenil yang tersedia dalam flavonoid juga dapat bereaksi dan membentuk ikatan ionik atau kovalen dengan gugus hidroksil, karboksil, amina atau amida dalam kolagen. Penelitian Jeevania, *et al.* (2014) menggunakan flavonoid proanthocyanidin (PRO), quercetin (QUE) dan naringin (NAR) dengan peningkatan sifat biomekanik matriks dentin CAD tertinggi pada PRO. Hal ini disebabkan karena PRO sebagai molekul oligomer, mengandung lebih banyak gugus fenil hidroksil dibandingkan QUE dan NAR.^{17,26} Namun pembentukan ikatan ini pada CAD juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti ukuran, jumlah, indeks kelarutan dan jenis reaktif molekul dari masing-masing larutan flavonoid. Dalam penelitian Davila, *et al.* (2021), pada flavonoid rutin (RUT) meskipun tidak memiliki jumlah gugus hidroksifenil tertinggi namun dikarenakan ukuran molekul yang jauh lebih kecil, dibandingkan dengan proanthocyanidin (PRO) dan kelarutan yang tinggi dalam air memungkinkan terjadinya peningkatan *longevity* ikatan resin-dentin pada CAD yang lebih baik.^{18,27}

Dalam Islam, *et al.* (2014), juga dijelaskan bahwa ukuran molekul

flavonoid juga sangat mempengaruhi ketika digabungkan dalam bahan *self-etch primer* sebagai *pretreatment* dentin. Pada penggabungan hesperidin (HPN) yang memiliki molekul lebih kecil dibandingkan PRO menghasilkan *dentin bond strength* yang lebih baik. Ukuran molekul PRO yang lebih besar mungkin telah menghambat efek etsa dari *self-etch primer*, sehingga menghambat hibridisasi yang ideal antara monomer dentin dan resin.^{19,28} Hal ini juga menjadi pertimbangan dalam penelitian Sahadi, *et al.* (2023), yaitu menggunakan flavonoid yang memiliki ukuran molekul terkecil, seperti kaempferol (286,24 g/mol). Hasil menunjukkan penetrasi yang lebih baik dalam menembus dentin demineralisasi, dan memberikan hasil μ TBS yang lebih baik.^{20,29}

Penggunaan agen remineralisasi dapat meningkatkan kekuatan ikatan dentin sebagai remineralisasi biomimetik dengan mekanisme biomineralisasi matriks kolagen.³⁰ MMP tidak dapat menghidrolisis kolagen tanpa adanya air, maka pengaplikasian agen remineralisasi akan menginduksi pertumbuhan kristal apatit, yang digunakan sebagai pengikat kolagen, dan menghambat MMP dengan mengganti sisa air dalam serat kolagen demineralisasi dengan mineral apatit yang baru. Proses remineralisasi ini dapat meningkatkan sifat mekanik berupa kekuatan ikatan dan daya tahan pada lapisan hybrid.^{30,31} Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Kim, *et al.* (2020) yang menggunakan berbagai macam agen remineralisasi, terlihat pada pengujian SEM, dengan meningkatnya konsentrasi CPIC, tingkat remineralisasi dentin juga meningkat secara signifikan.^{21,31} Lalu pada hasil penelitian Alagha (2020) menunjukkan bahwa gugus fluorohidroksiapatit memiliki nilai rerata kekuatan ikatan tertinggi (19,01 MPa) dikarenakan terdapat ion kalsium dan fosfat yang berkorelasi dengan ikatan kimia ini. Selain itu, komponen fluoride dapat meningkatkan kandungan mineral dentin.^{22,32}

SIMPULAN

Peningkatkan stabilitas dan kekuatan ikatan dentin, dengan inhibitor MMP

untuk menghambat enzim MMPs dapat menggunakan berbagai jenis flavonoid sebagai *crosslinker*. Selain itu, dapat juga dilakukan remineralisasi dentin menggunakan agen remineralisasi untuk meningkatkan terbentuknya lapisan hybrid. Penggunaan flavonoid dan agen remineralisasi baik bahan itu sendiri maupun penggabungan keduanya memberikan hasil yang efektif dalam peningkatan *microtensile bond strength*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bourbia M, Finer Y. Biochemical Stability and Interactions of Dental Resin Composites and Adhesives with Host and Bacteria in the Oral Cavity: A Review. *J Can Dent Assoc*. 2018 Jan;84:i1. PMID: 29513214.
2. Erhardt MC, Osorio R, Toledano M. Dentin treatment with MMPs inhibitors does not alter bond strengths to caries-affected dentin. *J Dent*. 2008 Dec;36(12):1068-73. doi: 10.1016/j.jdent.2008.09.002. Epub 2008 Oct 14. PMID: 18922612.
3. Fang M, Liu R, Xiao Y, Li F, Wang D, Hou R, Chen J. Biomodification to dentin by a natural crosslinker improved the resin-dentin bonds. *J Dent*. 2012 Jun;40(6):458-66. doi: 10.1016/j.jdent.2012.02.008. Epub 2012 Feb 22. PMID: 22366684.
4. Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. *Oper Dent*. 1994 Mar-Apr;19(2):59-64. PMID: 8008612.
5. Bedran-Russo AK, Pauli GF, Chen SN, McAlpine J, Castellan CS, Phansalkar RS, Aguiar TR, Vidal CM, Napolitano JG, Nam JW, Leme AA. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. *Dent Mater*. 2014 Jan;30(1):62-76. doi: 10.1016/j.dental.2013.10.012. Epub 2013 Dec 3. PMID: 24309436; PMCID: PMC3972923.
6. Islam MS, Hiraishi N, Nassar M, Yiu C, Otsuki M, Tagami J. Effect of hesperidin incorporation into a self-etching primer on durability of dentin bond. *Dent Mater*. 2014 Nov;30(11):1205-12. doi: 10.1016/j.dental.2014.08.371. Epub 2014 Sep 5. PMID: 25194169.
7. Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin adhesion and MMPs: a comprehensive review. *J Esthet Restor Dent*. 2013 Aug;25(4):219-41. doi: 10.1111/jerd.12016. Epub 2013 Feb 19.
8. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, Tezvergil-Mutluay A. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*. 2011 Jan;27(1):1-16. doi: 10.1016/j.dental.2010.10.016. Epub 2010 Nov 27. PMID: 21112620; PMCID: PMC3857593.
9. Carrilho MR, Geraldini S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, Reis AF, Hebling J, Mazzoni A, Breschi L, Pashley D. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res*. 2007 Jun;86(6):529-33. doi: 10.1177/154405910708600608. PMID: 17525352.
10. Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, Visintini E, Cadenaro M, Tay FR, De Stefano Dorigo E, Pashley DH. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater*. 2010 Jun;26(6):571-8. doi: 10.1016/j.dental.2010.02.007. Epub 2010 Mar 17. PMID: 20299089; PMCID: PMC3881003.
11. Al-Ammar A, Drummond JL, Bedran-Russo AK. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009 Oct;91(1):419-24. doi: 10.1002/jbm.b.31417. PMID: 19507140; PMCID: PMC2771399.
12. Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldini S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater*. 2013 Jan;29(1):116-35. doi: 10.1016/j.dental.2012.08.004. Epub 2012 Aug 16. PMID: 22901826; PMCID: PMC3684081.
13. Kim H, Choi A, Gong M-K, Park HR, Kim Y-I. Effect of Remineralized Collagen

- on Dentin Bond Strength through Calcium Phosphate Ion Clusters or Metastable Calcium Phosphate Solution. *Nanomaterials*. 2020; 10(11):2203. <https://doi.org/10.3390/nano10112203>
14. Abuelsaad AS, Mohamed I, Allam G, Al-Solumani AA. Antimicrobial and immunomodulating activities of hesperidin and ellagic acid against diarrheic *Aeromonas hydrophila* in a murine model. *Life Sci*. 2013 Nov 6;93(20):714-22. doi: 10.1016/j.lfs.2013.09.019. Epub 2013 Oct 1. PMID: 24090709.
 15. Wang J, Chen Y, Li L, Sun J, Gu X, Xu X, et al. Remineralisasi kolagen dentin oleh kalsium fosfat amorf meta-stabil. *CrystEngComm*. 2013;15:6151.
 16. Kim YK, Mai S, Mazzoni A, Liu Y, Tezvergill-Mutluay A, Takahashi K, Zhang K, Pashley DH, Tay FR. Biomimetic remineralization as a progressive dehydration mechanism of collagen matrices--implications in the aging of resin-dentin bonds. *Acta Biomater*. 2010 Sep;6(9):3729-39. doi: 10.1016/j.actbio.2010.03.021. Epub 2010 Mar 18. PMID: 20304110; PMCID: PMC2901402.
 17. Epasinghe DJ, Yiu CK, Burrow MF, Tsoi JK, Tay FR. Effect of flavonoids on the mechanical properties of demineralised dentine. *J Dent*. 2014 Sep;42(9):1178-84. doi: 10.1016/j.jdent.2014.07.002. Epub 2014 Jul 8. PMID: 25010542.
 18. Dávila-Sánchez A, Gutierrez MF, Bermudez JP, Méndez-Bauer L, Pulido C, Kiratcz 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.
 19. Islam MS, Hiraishi N, Nassar M, Yiu C, Otsuki M, Tagami J. Effect Of Hesperidin Incorporation Into A Self-Etching Primer On Durability Of Dentin Bond. *Dent Mater*. 2014 Nov;30(11):1205-12.
 20. Sahadi BO, André CB, Sebold M, Giannini M. Effect of flavonoid-based experimental primers on dentin microtensile bond strength and interface morphology, *Internat J Adhesion Adhesives* 2023;124(10):3397.
 21. Kim H, Choi A, Gong MK, Park HR, Kim YI. Effect of Remineralized Collagen on Dentin Bond Strength through Calcium Phosphate Ion Clusters or Metastable Calcium Phosphate Solution. *Nanomaterials (Basel)*. 2020 Nov 4;10(11):2203.
 22. Alagha EI. Effect of using Different Remineralizing Agents on Micro-shear Bond Strength of Nanohybrid Composite Resin. *Maced J Med Sci*, 2020 Apr. 10 [cited 2023 May 26];8(D):70-6.
 23. Paik Y, Kim JH, Yoo KH, Yoon SY, Kim YI. Dentin Biomodification with Flavonoids and Calcium Phosphate Ion Clusters to Improve Dentin Bonding Stability. *Materials (Basel)*. 2022 Feb 17;15(4):1494.
 24. Joves GJ, Inoue G, Nakashima S, Sadr A, Nikaido T, Tagami J. Mineral density, morphology and bond strength of natural versus artificial caries-affected dentin. *Dent Mater J*. 2013;32(1):138-43. doi: 10.4012/dmj.2012-243. PMID: 23370882.
 25. Leme-Kraus AA, Aydin B, Vidal CM, Phansalkar RM, Nam JW, McAlpine J, Pauli GF, Chen S, Bedran-Russo AK. Biostability of the Proanthocyanidins-Dentin Complex and Adhesion Studies. *J Dent Res*. 2017 Apr;96(4):406-412. doi: 10.1177/0022034516680586. Epub 2016 Dec 7. PMID: 27927886; PMCID: PMC5384485.
 26. Castellan CS, Bedran-Russo AK, Karol S, Pereira PN. Long- term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 2011;4:1343-50.
 27. Aguiar TR, Vidal CM, Phansalkar RS, Todorova I, Napolitano JG, McAlpine JB, et al. Dentin Biomodification Potential Depends On Polyphenol Source. *J Dent Res* 2014;93:417-22.
 28. Islam SM, Hiraishi N, Nassar M, Sono R,

- Otsuki M, Takatsura T, Yiu C, Tagami J. In vitro effect of hesperidin on root dentin collagen and de/re-mineralization. *Dent Mater J* 2012;31:362–7.
29. Fang M, Liu R, Xiao Y, Li F, Wang D, Hou R, Chen J. Biomodification to dentin by a natural crosslinker improved the resin-dentin bonds. *J Dent*. 2012 Jun;40(6):458-66. doi: 10.1016/j.jdent.2012.02.008. Epub 2012 Feb 22. PMID: 22366684.
 30. Ayar MK. A review of ethanol wet-bonding: Principles and techniques. *Eur J Dent*. 2016 Jan-Mar;10(1):155-159. doi: 10.4103/1305-7456.175687. PMID: 27011756; PMCID: PMC4784147.
 31. Cao CY, Mei ML, Li QL, Lo EC, Chu CH. Methods for biomimetic remineralization of human dentine: a systematic review. *Int J Mol Sci*. 2015 Mar 2;16(3):4615-27. doi: 10.3390/ijms16034615. PMID: 25739078; PMCID: PMC4394438..
 32. Mahmoud N. Remineralization Potential Of Hydroxyapatite And Fluoride Nano Particles Of On Dentin. *Egypt Dent J*. 2015;61(2):1872.