

# Operatoria dental y endodoncia. 5. Protección de la interfaz resina-dentina mediante inhibidores de las enzimas colagenolíticas

## *Operative dentistry and endodontics. 5. Protection of the resin-dentin interface by collagenolytic enzyme inhibitors*

Presentado: 9 de marzo de 2018

Aceptado: 19 de junio de 2018

Eleonor María Vélez León,<sup>1</sup> Magda Zulay Bastidas Calva,<sup>1</sup> Diana Patricia Álvarez Álvarez,<sup>1</sup> Osvaldo Zmener<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad Académica de Salud y Bienestar, Carrera de Odontología, Universidad Católica de Cuenca, Ecuador

<sup>2</sup>Carrera de Especialización en Endodoncia, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Odontología, Universidad del Salvador / Asociación Odontológica Argentina

### Resumen

La adhesión entre las resinas hidrófilas y la dentina se encuentra sometida a una degradación permanente cuya intensidad aumenta en función del tiempo transcurrido. Esto es producto de la actividad de las metaloproteinasas, de las catepsinas y otras enzimas colagenolíticas, responsables de la destrucción paulatina de las fibras colágenas de la capa híbrida. La mayoría de las estrategias para inhibir estas enzimas

han sido ensayos de laboratorio, mientras que las investigaciones clínicas son escasas. En este trabajo se analiza la literatura relacionada con las estrategias sugeridas para prevenir la degradación del colágeno de la capa híbrida en la interfaz resina-dentina.

**Palabras clave:** Adhesivos dentinarios, clorhexidina, dentina, enzimas proteolíticas.

### Abstract

The bonds between hydrophilic resins and dentin are subjected to a time-dependent collagenolytic degradation. Endogenous enzymes such as matrix metalloproteinases, catepsins and other enzymes are responsible for the hybrid layer destruction. The majority of strategies developed to inhibit these enzymes are laboratory evaluations while clinical

studies are scarce. This review examines the literature related to the strategies suggested to prevent collagen degradation of the hybrid layer in resin-dentin interfaces.

**Key words:** Chlorhexidine, dentin, dentin adhesives, proteolytic enzymes.

### Introducción

Durante las dos últimas décadas se han venido desarrollando nuevos y más sofisticados materiales de restauración con la capacidad de mejorar la resistencia adhesiva en la interfaz resina-dentina. Sin embargo, existe una opinión consensuada entre los investigadores acerca de que la adhesión micromecánica obtenida en las restauraciones mediante el uso de los adhesivos dentinarios hidrófilos tiende a sufrir

un deterioro progresivo a lo largo del tiempo, reduciendo de esta forma su durabilidad.<sup>1,2</sup>

Este fenómeno es atribuido principalmente a la degradación progresiva de la capa híbrida.<sup>2,3</sup> A consecuencia de ello, la posterior filtración bacteriana en la interfaz resina-dentina<sup>3</sup> inicia el desarrollo de caries recurrente, aumentando la sensibilidad y provocando diferentes grados de inflamación pulpar vía conduc-

tillos dentinarios que, en la mayoría de los casos, requiere de un tratamiento endodóntico.<sup>4</sup>

El deterioro que se produce en la matriz colágena a medida que transcurre el tiempo se debe a la degradación hidrolítica del adhesivo<sup>4-6</sup> y a la participación activa de una serie de enzimas colagenolíticas sintetizadas y segregadas por odontoblastos durante el proceso de dentinogénesis, denominadas metaloproteinasas (MMP) y catepsinas (CTP). Las MMP y las CTP quedan posteriormente fosilizadas en la matriz dentinaria,<sup>4,7,8</sup> y se reactivan en presencia de un pH ácido, especialmente durante el grabado. Estas enzimas actúan fundamentalmente en la zona de la capa híbrida, donde luego de la acción del grabado ácido las fibras colágenas son parcialmente infiltradas por la resina y, por lo tanto, quedan desprotegidas.

Tjäderhane *et al.*<sup>9</sup> observaron que el proceso de dentinogénesis y mineralización requiere de un control enzimático extracelular a través de una serie de proteinasas, de las cuales una gran proporción pertenece a la familia de las MMP. Se ha demostrado que las MMP –de las que hasta el momento se conocen cinco: MMP-2, MMP-9, MMP-8, MMP-14 y MMP-20– son endopeptidasas dependientes del calcio y del cinc, y que participan activamente en la degradación de la matriz dentinaria.<sup>10</sup>

El objetivo de este trabajo fue analizar la información disponible en relación con el patrón de comportamiento de las enzimas colagenolíticas que comprometen la estabilidad de la interfaz resina-dentina y las recientes estrategias experimentales desarrolladas para intentar prevenir o reducir su degradación.

## Desarrollo

**Metodología de la recolección de datos.** Se realizó una revisión de la literatura relativa a trabajos de investigación publicados hasta 2017, entre los que se cuentan publicaciones históricas consideradas precursoras de los procedimientos actualmente ensayados. Se utilizó información obtenida de PubMed y de la base de datos Cochrane 2014, y se complementó la búsqueda mediante bibliografía cruzada. El criterio de inclusión abarcó solamente trabajos publicados en revistas con referato y que, a juicio de los autores, aportaran los conocimientos esenciales para la comprensión de los mecanismos que regulan la inhibición de la actividad enzimática y permiten conservar la integridad de la capa híbrida.

**Degradación del colágeno.** En un trabajo anterior,<sup>4</sup> se hizo referencia a las MMP, las CTP y otras enzimas colagenolíticas fosilizadas en la matriz dentinaria, cuya presencia ha sido ya confirmada

por diferentes investigadores.<sup>7,11,12</sup> Estas enzimas se encuentran directamente relacionadas con la degradación de las fibras colágenas que no han sido adecuadamente protegidas a causa de su impregnación incompleta por parte de la resina. Esto se produce cuando las MMP son activadas durante la aplicación de los adhesivos que requieren de un tratamiento de grabado de la dentina.<sup>13</sup> El reducido pH del ácido fosfórico (0,7-1) incrementa la acción colagenolítica sobre la matriz dentinaria que ha sido desmineralizada. Lehmann *et al.*<sup>14</sup> observaron que aún el uso de un adhesivo de autograbado desarrolla un pH suficientemente bajo como para incrementar la síntesis de la MMP-2 en odontoblastos humanos, lo que posibilitaría la acción de estas enzimas sobre la capa híbrida a través del fluido contenido en los túbulos dentinarios.

Adicionalmente, la función de las MMP se halla potenciada por la acción de las CTP, un tipo de endopeptidasas que participan en la lisis intracelular dentro de los compartimientos lisosomales, aunque también existen como exopeptidasas participando en la degradación de la matriz extracelular, especialmente en la degradación del colágeno tipo 1.<sup>15,16</sup> Tersariol *et al.*<sup>17</sup> informaron que las CTP también son producidas y liberadas por odontoblastos, especialmente aquellos que se encuentran en las últimas etapas de maduración, y están presentes en la dentina sana, aunque también se las ha observado en altas proporciones en la dentina cariada. De la misma forma que las MMP, la presencia de las CTP en los túbulos dentinarios confirman su origen pulpar y pueden ser activadas por el pH de los monómeros de las resinas adhesivas.<sup>17</sup> Hashimoto *et al.*<sup>18</sup> observaron que la degradación de la capa híbrida sigue dos diferentes patrones de comportamiento: a) pérdida de la resina de los espacios interfibrilares; b) desorganización de las fibras colágenas. Este comportamiento es el resultante de la hidrólisis de la resina y del colágeno, fenómeno que afecta sensiblemente la estabilidad de la interfaz resina-dentina. Otras experiencias realizadas *ex vivo* e *in vivo* revelaron que suele quedar una gran proporción de fibras colágenas desprotegidas dentro de la capa híbrida,<sup>19-21</sup> ya que su infiltración y encapsulación por parte de la resina no siempre es completa. Por su parte, Spencer *et al.*<sup>22</sup> comprobaron que, a diferencia de los adhesivos que requieren de un grabado previo de la dentina, las resinas adhesivas de autograbado tienden a disolver la fase inorgánica de la dentina e infiltran simultáneamente la matriz dentinaria, produciendo finalmente una menor exposición de las fibras colágenas. En una experiencia *in vivo*, Ferrari y Tay<sup>23</sup> observaron que se producía

nanofiltración en la interfaz, incluso en ausencia de espacios vacíos, y reafirman que la degradación de las áreas incompletamente infiltradas por la resina se debe exclusivamente a la acción de las enzimas colagenolíticas dentro de la matriz dentinaria, aún en ausencia de enzimas bacterianas.<sup>24</sup> Estos resultados concuerdan con los de Pashley *et al.*<sup>25</sup> y Nishitani *et al.*<sup>26</sup>

#### **Inhibición de la acción de las MMP y las CTP.**

Recientemente se ha sugerido una serie de estrategias que intentan inhibir o al menos reducir la degradación de las fibras colágenas desprotegidas provocada por las MMP y las CTP. El uso de estas estrategias durante los procedimientos clínicos de restauración con resinas adhesivas podría constituir una maniobra importante que permita prevenir y mantener la estabilidad de la interfaz resina-dentina durante períodos de tiempo más prolongados, evitando de esta manera la penetración bacteriana (Zmener *et al.* 2013; datos no publicados), la hipersensibilidad, la formación de caries recurrentes y futuras complicaciones pulpares. Estas experiencias se basan fundamentalmente en el uso de inhibidores de las enzimas colagenolíticas. En ese sentido, el gluconato de clorhexidina,<sup>27-40</sup> el EDTA,<sup>41-46</sup> los agentes capaces de establecer cadenas cruzadas,<sup>47-49</sup> los inhibidores sintéticos de las MMP,<sup>50,51</sup> los metacrilatos que contienen amonio cuaternario<sup>52-55</sup> y ciertos procedimientos de técnica<sup>5,56,57</sup> han sido ensayados con diferentes grados de eficacia.

**Clorhexidina (CHX).** Hasta el momento, la CHX aplicada directamente sobre la superficie dentinaria o incorporada dentro de la fórmula del adhesivo parecería ser una de las estrategias más efectivas y de fácil aplicación en la clínica. Se ha demostrado que la CHX inhibe la acción de la MMP-2, MMP-8 y MMP-9 y cierto tipo de CTP,<sup>27,28</sup> y preserva –tanto *ex vivo* como *in vivo*–<sup>29,30</sup> la integridad de la matriz colágena de la capa híbrida, sin interferir con la capacidad adhesiva de las resinas.<sup>30-32</sup>

Carrillo *et al.*<sup>33</sup> realizaron una experiencia en pacientes que presentaban terceros molares sanos con indicación de extracción por razones quirúrgicas. Luego de preparar cavidades de clase I, los molares se dividieron en dos grupos. Las cavidades del grupo 1 recibieron un tratamiento con ácido fosfórico al 35% (3M, ESPE, St. Paul, MN, Estados Unidos) durante 15 segundos y, a continuación, se les aplicó la resina Single Bond (3M) sobre la dentina ligeramente húmeda. Las cavidades fueron restauradas mediante una capa de 1,5 mm de espesor con resina compuesta Clearfil Protect Liner (Kuraray, Osaka,

Japón), y finalmente con dos incrementos de la resina compuesta Z-250 (3M). En las cavidades del grupo 2 se realizó el mismo tratamiento excepto que, previamente a la aplicación del ácido, la dentina fue tratada con CHX al 2%. Luego de 14 meses, los molares fueron extraídos, y la conservación de la capacidad adhesiva de la restauración se analizó mediante un ensayo de microtensión y, posteriormente, mediante observación con microscopía electrónica de transmisión. Los autores comprobaron que la capacidad adhesiva y la integridad de la trama colágena infiltrada por la resina se mantuvo estable en los molares del grupo 2. Por el contrario, el colágeno reveló una degradación progresiva, y la capacidad adhesiva se redujo significativamente en los dientes del grupo 1, donde no se utilizó la CHX. Los autores concluyeron en que la degradación del colágeno de la capa híbrida puede ser inhibido de forma efectiva por medio de la aplicación de CHX. En ese sentido, Gendron *et al.*<sup>27</sup> demostraron que, aún en concentraciones menores (0,02%, 0,002% y 0,0001%), la CHX inhibe la actividad de MMP-8, MMP-9 y MMP-2, respectivamente.

En concordancia con las observaciones de Gendron *et al.*,<sup>27</sup> otros investigadores<sup>13,25,29,34</sup> demostraron que la CHX inhibe la degradación de la interfaz resina-dentina, ya sea aplicándola directamente sobre la dentina desmineralizada o incorporada dentro de la fórmula del acondicionador ácido utilizado antes de aplicar el adhesivo. En una experiencia de dos años de duración realizada en terceros molares humanos extraídos, Stanislawczuk *et al.*<sup>35</sup> probaron, por medio de ensayos de nanofiltración y resistencia adhesiva, que la estabilidad de la interfaz resina-dentina permanecía estable cuando utilizaban CHX. En otro ensayo realizado sobre 120 molares humanos extraídos y bajo condiciones donde los especímenes fueron sometidos a una presión intrapulpar simulada, Mobarak<sup>36</sup> observó que la CHX al 2% y al 5% fue sumamente efectiva para mantener la estabilidad de la interfaz resina-dentina y la resistencia adhesiva. Resultó interesante corroborar que esto se produjo no solamente cuando la CHX fue aplicada sobre dentina sana, sino también sobre dentina afectada por caries.

Mohammadi y Abbot<sup>37</sup> concluyeron que la CHX posee suficiente sustantividad como para permanecer acoplada a la dentina mineralizada durante por lo menos 12 semanas. Kim *et al.*<sup>38</sup> observó que la CHX puede permanecer acoplada durante un tiempo significativamente mayor sobre la dentina desmineralizada, aún a posteriori de la aplicación del adhesivo, y que esta podría ser la causa de su eficacia como fac-

tor inhibidor de las MMP. Sin embargo, Blackburn *et al.*<sup>39</sup> sugieren que la CHX podría ser desplazada por cationes competitivos provenientes del fluido dentinario o de la saliva y que, en consecuencia, podría permanecer ligada a la dentina solo 9 o 10 meses, produciéndose la degradación de la capa híbrida aproximadamente 18 meses después. Por el contrario, se ha informado que la incorporación de CHX a los monómeros da lugar a un complejo CHX/metacrilato, lo cual permitiría disponer de una combinación con propiedades inhibitorias más prolongadas.<sup>40</sup>

Con el objeto de confirmar estas observaciones, Sabatini<sup>40</sup> realizó un ensayo en 120 molares humanos sanos recientemente extraídos donde utilizó el sistema adhesivo Peak Universal Bond (Ultradent, South Jordan, UT, Estados Unidos), que contiene 0,2% de CHX en su formulación, en comparación con el sistema adhesivo convencional Peak LC Bond (Ultradent) o la CHX al 2%, aplicada directamente sobre dentina antes de la inserción del adhesivo convencional. Los resultados demostraron que la CHX al 0,2% o al 2% tiene la capacidad de inhibir la actividad colagenolítica de las MMP. A diferencia del adhesivo convencional, la resistencia adhesiva y la estabilidad de la interfaz resina-dentina obtenida –tanto cuando la CHX se incorpora a la fórmula química del adhesivo como cuando es aplicada directamente sobre dentina– fue significativamente superior a lo largo de un período de 6 meses de conservación en agua destilada a 37° C, y no se registraron diferencias significativas entre estos dos últimos procedimientos.

**EDTA.** Se ha informado que la quelación del zinc y el calcio por medio del EDTA preserva las propiedades mecánicas de la dentina,<sup>41</sup> inhibiendo la actividad de las MMP<sup>42</sup> y desarrollando una capa híbrida resistente al proceso de degradación del colágeno.<sup>43</sup> Sin embargo, las experiencias mencionadas<sup>41-43</sup> han utilizado un modelo experimental cuya eficacia aún requiere de ensayos de larga duración, ya que aparentemente la sustentabilidad de la acción del EDTA se mantiene por poco tiempo.<sup>44</sup> Carrillo *et al.*<sup>44</sup> y Tezvergil-Mutulay *et al.*<sup>45</sup> observaron que la inhibición de las MMP producida por el EDTA parece ser reversible, lo que permitiría que la actividad de las enzimas colagenolíticas perdure durante períodos prolongados. Resulta claro que el uso del EDTA –si bien es efectivo en experiencias de laboratorio– no constituye una estrategia eficaz para la clínica diaria,<sup>46</sup> y que aún se necesitan investigaciones más exhaustivas.

**Agentes con capacidad de formar cadenas cruzadas (CLA).** Los agentes del grupo de los CLA

tienen la capacidad de establecer cadenas cruzadas con el colágeno de la estructura dentinaria.<sup>47</sup> Hasta el momento, las experiencias realizadas son escasas y se basan fundamentalmente en la inmersión de probetas de dentina desmineralizada en distintas concentraciones de agentes químicos capaces de formar cadenas cruzadas durante diferentes períodos.<sup>47-49</sup> Los resultados de estas experiencias demostraron que las propiedades mecánicas de las probetas aumentan en función de la concentración del agente ensayado y del tiempo de inmersión. Entre la variedad de agentes investigados, el glutaraldehído (GLHi) y un producto natural a base de extracto de semillas de uva (ESUv) parecerían comportarse adecuadamente para este propósito. Sin embargo, Xu y Wang<sup>49</sup> sugieren que el modelo empleado en las experiencias mencionadas solo tiene el valor de una información académica y no resulta práctico, ya que el GLHi es tóxico y el ESUv tiñe la dentina de color marrón. La riboflavina (RFVi) en bajas concentraciones también ha demostrado ser efectiva para inhibir el proceso de degradación de las fibras colágenas en la capa híbrida,<sup>49</sup> pero, al igual que lo que ocurre con el GLHi y el ESUv, su modo de aplicación solo resulta útil en experimentos de laboratorio, y aún se requiere más información acerca de su posible aplicación clínica.<sup>47-49</sup>

**Inhibidores sintéticos de las MMP (IHSt).** Las tetraciclinas modificadas mediante un proceso químico se comportan como inhibidores sintéticos de las MMP y han demostrado ser efectivas para la conservación del colágeno en la interfaz resina-dentina.<sup>50</sup> Al ser modificadas en su composición química, pierden gran parte de sus propiedades antibacterianas pero mantienen la capacidad de inhibir las MMP y las CTP. En ese sentido, la doxiciclina constituye uno de los IHSt más efectivos para inhibir la actividad de las MMP y las CTP en la interfaz resina-dentina. Además, posee una particular capacidad de inhibición de estas enzimas en la dentina afectada por caries.<sup>51</sup> Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los IHSt colorean la dentina y que aún no existen protocolos adecuados para su aplicación clínica.<sup>50,51</sup>

**Metacrilatos que contienen amonio cuaternario (MAmC).** Los MAmC han sido ensayados mediante su incorporación a la fórmula química de los adhesivos de autograbado. De acuerdo a Imazato *et al.*,<sup>52</sup> estos metacrilatos tienen propiedades antibacterianas, no alteran el proceso de polimerización de las resinas y son efectivos inhibidores de las enzimas colagenolíticas (especialmente la MMP-2 y la MMP-9) en la capa híbrida.<sup>52,53</sup> Por el contrario, de Munck *et al.*<sup>54</sup> y

Mazzoni *et al.*<sup>55</sup> informaron acerca de una reducción significativa de la capacidad adhesiva de estos meta-crilatos en comparación con otros tipos de adhesivos y consideran que, hasta tanto no se disponga de una información más exhaustiva, el uso de MAmC no debería ser considerado un procedimiento recomendable en la clínica.

**Procedimientos técnicos adicionales.** Dado que la estabilidad de la capa híbrida en la interfaz resina-dentina depende de la impregnación adecuada de las fibras colágenas expuestas, se han propuesto algunas variantes de técnica con el objeto de mejorar la penetración de los monómeros y eliminar –o al menos reducir– la degradación del colágeno.

Se ha sugerido que la aplicación del adhesivo en varias capas mediante la fricción enérgica del instrumento aplicador<sup>5,56</sup> es un procedimiento que contribuye a la preservación de la capa híbrida. Por su parte, Cadenaro *et al.*<sup>57</sup> observaron que aumentar aproximadamente 10 segundos el tiempo de curado contribuye a mejorar la conversión de los monómeros y conservar de esta manera la calidad de la adhesión en la interfaz resina-dentina durante tiempos más prolongados. En ese sentido, Tjäderhane *et al.*<sup>58</sup> y Giacomini *et al.*<sup>59</sup> consideran que el fenómeno de la adhesión en la interfaz resina-dentina constituye un tipo especial de ingeniería tisular, y que el aumento del tiempo de curado favorece significativamente la adhesión en la interfaz resina-dentina.

## Conclusiones

El fenómeno de la adhesión requiere que la matriz colágena desmineralizada durante la aplicación del grabado permanezca en forma de red de fibras desorganizadas que posteriormente deberán ser infiltradas por la resina.

Sin embargo, la penetración de esta suele ser incompleta, dejando las fibras colágenas sin protección y totalmente expuestas a la acción de las MMP y las CTP, que degradan finalmente la capa híbrida. Esta degradación y la presencia de humedad en la interfaz aumentan de forma directamente proporcional al tiempo transcurrido.

Este proceso se produce aún en ausencia de bacterias, las que suelen estimular la actividad enzimática mediante la liberación de sus toxinas en un medio ácido, especialmente en la dentina afectada por caries.

La mayoría de los investigadores han puesto su atención en la acción colagenolítica de estas enzimas y el beneficio del uso de agentes inhibidores, entre los que la CHX parecería ocupar un lugar destacado,

especialmente porque tiene propiedades antimicrobianas, es sustentable y ejerce al mismo tiempo un efecto buffer sobre la dentina desmineralizada.

Es posible que la acción de los agentes inhibidores sugeridos sea más efectiva en individuos que superan los 50 años de edad, ya que la concentración de las MMP y las CTP en la dentina se reduce progresivamente en los adultos mayores.

En opinión de los autores del presente trabajo, el desarrollo de protocolos inhibidores de las MMP y las CTP aplicables en la clínica diaria permitirá –en un futuro mucho más cercano de lo que se espera– aumentar la duración de las restauraciones y favorecer la conservación de la vitalidad pulpar.

*Los autores declaran no tener conflictos de intereses en relación con este estudio y afirman no haber recibido financiamiento externo para realizarlo.*

## Referencias

1. Armstrong SR, Keller JC, Boyer DB. The influence of water storage and C-factor on the dentin-resin composite microtensile bond strength and debond pathway utilizing a filled and unfilled adhesive resin. *Dent Mater* 2001;17:268-76.
2. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, *et al.* Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res* 2003;82:136-40.
3. Kermanshahi S, Santerre JP, Cvitkovitch DG, Finer Y. Biodegradation of resin-dentin interfaces increases bacterial microleakage. *J Dent Res* 2010;89:996-1001.
4. Zmener O, Pameijer CH. Operatoria dental y endodoncia. 1. La degradación de la interfaz resina-dentina favorece la filtración bacteriana. *Rev Asoc Odontol Argent* 2014;102:145-49.
5. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 2000;79:1385-91.
6. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Tay FR, Kaga M, Kudo Y, *et al.* Micromorphological changes in resin-dentin bonds after 1 year of water storage. *J Biomed Mater Res* 2002;63:306-11.
7. Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjäderhane L. The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, Enamelysin) in mature human teeth. *J Dent Res* 2002;81:603-7.
8. Van Strijp AJ, Jansen DC, DeGroot J, Ten Cate JM, Everts V. Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ. *Caries Res* 2003;37:58-65.
9. Tjäderhane L, Palosaari H, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Salo T. Human odontoblast culture method. The expression of collagen and matrix metalloproteinases (MMPs). *Adv Dent Res* 2001;15:55-8.
10. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry. *Circ Res* 2003;92:827-39.

11. Mazzoni A, Manello F, Tay FR, Tonti GA, Papa S, Mazzoti G, *et al.* Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res* 2007;86:436-40.
12. Santos J, Carrilho M, Tervahartiala T, Sorsa T, Breschi L, Mazzoni A, *et al.* Determination of matrix metalloproteinases in human radicular dentin. *J Endod* 2009;35:686-89.
13. De Munk J, Van Den Steen PE, Mine A, Van Landuit KL, Poitevin A, Opdenakker G. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive dentin interfaces. *J Dent Res* 2009;88:1101-06.
14. Lehmann N, Debret R, Roméas A, Magloire H, Degrange M, Bleicher F, *et al.* Self-etching increases matrix metalloproteinase expression in the dentin-pulp complex. *J Dent Res* 2009;88:77-82.
15. Dickinson DP. Cysteine peptidases of mammals: their biological roles and potential effects in the oral cavity and other tissues in health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13:238-75.
16. Obermajer N, Jevnikar Z, Doljak B, Kos J. Role of cysteine cathepsins in matrix degradation and cell signaling. *Connect Tissue Res* 2008;49:193-96.
17. Tersariol IL, Gerardeli S, Minciotti CL, Nascimento FD, Pääkönen V, Martins MT, *et al.* Cysteine cathepsins in human dentin-pulp complex. *J Endod* 2010;36:475-81.
18. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials* 2003;24:3795-803.
19. Eik JD, Gwinnett AJ, Pashley DH, Robinson SJ. Current concepts on adhesion to dentin. *Crit Rev Oral Med Biol* 1997;81:306-35.
20. Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J, *et al.* Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res* 1999;78:906-11.
21. Hashimoto M, Tay FR, Ohno H, Sano H, Kaga M, Yiu C, *et al.* SEM and TEM analysis of water degradation of human dentin collagen. *J Biomed Mat Res* 2003;66:287-98.
22. Spencer P, Wang Y, Katz JL. Identification of collagen encapsulation at the dentin/adhesive interface. *J Adhes Dent* 2004;6:91-5.
23. Ferrari M, Tay FR. Technique sensitivity in bonding to vital acid-etched dentin. *Oper Dent* 2003;28:3-8.
24. Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Monticelli F, Osorio R. Self-etching adhesives increase collagenolytic activity in radicular dentin. *J Endod* 2006;32:862-8.
25. Pashley DH, Tay FR, Yiu CKY, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho R, *et al.* Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83:216-21.
26. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Manello F, Mazzoni A, *et al.* Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci* 2006;114:160-6.
27. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8 and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6:437-9.
28. Scaffa PM, Vidal CM, Barros N, Gesteira TF, Carmona AK, Breschi L, *et al.* Chlorhexidine inhibits the activity of dental cysteine cathepsins. *J Dent Res* 2012;91:420-5.
29. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res* 2005;84:741-6.
30. Carrilho MR, Carvalho RM, De Goes MF, Di Hipólito V, Gerardeli S, Tay FR, *et al.* Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res* 2007;86:90-4.
31. Breschi L, Cammelli F, Visintini E, Mazzoni A, Vita F, Carrilho M, *et al.* Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12 month in vitro study. *J Adhes Dent* 2009;11:191-8.
32. Kim B-R, Oh M-H, Shin D-H. Effects of cavity disinfectants on antimicrobial activity and microtensile bond strength in class 1 cavity. *Dent Mat J* 2017;36:368-73.
33. Carrilho M, Gerardeli S, Tay FR, De Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, *et al.* In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res* 2007;86:529-33.
34. Brackett MG, Tay FR, Brackett WW, Dib A, Dipp FA, Mai S, *et al.* In vivo chlorhexidine stabilization of hybrid layers of an acetone-based dentin adhesive. *Oper Dent* 2009;34:379-83.
35. Stanislawczuk R, Reis A, Loguercio A. A 2-year in vitro evaluation of a chlorhexidine containing acid on the durability of the resin-dentin interfaces. *J Dent* 2011;39:40-7.
36. Mobarak E. Effect of chlorhexidine pretreatment on bond strength durability of caries-affected dentin over two-year aging in artificial saliva and under simulated intrapulpal pressure. *Oper Dent* 2011;36:649-60.
37. Mohammadi Z, Abbot PV. Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: A review. *Aust Endod J* 2009;35:131-39.
38. Kim J, Uchiyama T, Carrilho M, Agee KA, Mazzoni A, Breschi L, *et al.* Chlorhexidine binding to mineralized versus demineralized dentin powder. *Dent Mater* 2010;26:771-78.
39. Blackburn RS, Harvey A, Kettle LL, Manian AP, Paine JD, Russell SJ. Sorption of chlorhexidine on cellulose: mechanism of binding and molecular recognition. *J Phys Chem B* 2007;111:8775-84.
40. Sabatini C. Effect of a chlorhexidine-containing adhesive on dentin bond strength stability. *Oper Dent* 2013;38:609-17.
41. Carrilho MR, Tay FR, Sano H, Yoshiyama M, Pashley DH. Long-term mechanical properties of EDTA-demineralized dentin matrix. *J Adhes Dent* 2000;2:193-9.
42. Thompson JM, Agee K, Sidow SJ, McNally K, Lindsey K, Borke J, *et al.* Inhibition of endogenous dentin matrix metalloproteinases by ethylenediaminetetraacetic acid. *J Endod* 2012;38:62-5.
43. Osorio R, Erhardt MC, Pimenta LA, Osorio E, Toledano M. EDTA treatment improves resin-dentin bonds resistance to degradation. *J Dent Res* 2005;84:736-40.
44. Carrilho MR, Tay FR, Donnelly AM, Agee KA, Tjäderhane L, Mazzoni A, *et al.* Host-derived loss of dentin matrix stiffness associated with solubilization of collagen. *J Biomed Mat Res* 2009;90:373-80.
45. Tezvergil-Mutulay A, Mutulay M, Seseogullari-Dirihan R, Agee K, Key WO, Scheffel DLS, *et al.* Effect of phosphoric acid on the degradation of human dentin matrix. *J Dent Res* 2013;92:87-91.
46. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho

- RM, Carrilho M, *et al.* State of the art: etch-and-rinse adhesives. *Dent Mat* 2011;27:1-16.
47. Al-Ammar A, Drummond JL, Bedran-Russo AK. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mat Res* 2009;91:419-24.
  48. Aydin B, Hassan LS, Viana G, Bedran-Russo AK. Assessing collagen and microporosity at the proanthocyanidin-treated resin-dentin interface. *J Adhes Dent* 2016;18:529-34.
  49. Xu C, Wang Y. Collagen cross linking increases its biodegradation resistance in wet dentin bonding. *J Adhes Dent* 2012;14:11-18.
  50. Sorsa T, Tjäderhane L, Kontinen YF, Lauhio A, Salo T, Lee HM, *et al.* Matrix metalloproteinases contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med* 2006;38:306-21.
  51. Sulkala M, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Teronen O, Salo T, *et al.* The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. *J Dent Res* 2001;80:1545-9.
  52. Imazato S, Kinomoto Y, Tarumi H, Ebizu S, Tay FR. Antibacterial activity and bonding characteristics of an adhesive resin containing antibacterial monomer MDPB. *Dent Mat* 2003;19:313-9.
  53. Donmez L, Belli S, Pashley DH, Tay FR. Ultrastructural correlates of in vivo/in vitro bond degradation in self-etch adhesives. *J Dent Res* 2005;84:355-9.
  54. De Munck J, Mine A, Van Der Steen PE, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, *et al.* Enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces produced by mild self-etch adhesives. *Eur J Oral Sci* 2010;118:494-501.
  55. Mazzoni A, Carrilho M, Papa V, Tjäderhane L, Gobbi P, Nucci C, *et al.* MMP-2 assay within the hybrid layer created by a two-step etch-and-rinse adhesive: Biochemical and immunohistochemical analysis. *J Dent* 2011;39:470-7.
  56. Hashimoto M. A review. Micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *J Biomed Mat Res B Appl Biomater* 2010;92:268-80.
  57. Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, *et al.* Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci* 2005;113:525-30.
  58. Tjäderhane L, Carrilho MR, Breschi L, Tay FR, Pashley DH. Dentin basic structure and composition. An overview. *Endod Topics* 2012;20:3-29.
  59. Giacomini MC, Scaffa PMC, Chaves LP, Vidal C, Machado TN, Honório HM, *et al.* Role of proteolytic enzyme inhibitors on carious and eroded dentin associated with a universal bonding system. *Oper Dent* 2017;42:188-196.

Contacto:

**OSVALDO ZMENER**

*osvaldo@zmener.com.ar*

Julián Álvarez 2335 (C1425DHI)

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina