

RESSALVA

Atendendo solicitação do (a) autor (a), o texto completo desta tese será disponibilizado a partir de 03/12/2020



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

LUCÉLIA LEMES GONÇALVES

**SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL: análise da interface adesiva
e degradação colagenolítica em dentina submetida à diferentes
protocolos de condicionamento ácido**

2018

LUCÉLIA LEMES GONÇALVES

**SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL: análise da interface adesiva e
degradação colagenolítica em dentina submetida à diferentes protocolos
de condicionamento ácido**

Tese apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA.

Área: Dentística. Linha de Pesquisa: Avaliação clínica e laboratorial de alterações da estrutura dental, de materiais e de técnicas de prevenção e tratamento em dentística.

Orientador: Prof. Tit. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves

São José dos Campos

2018

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2018]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Gonçalves, Lucélia Lemes

Sistema adesivo universal: análise da interface adesiva e degradação colagenolítica em dentina submetida à diferentes protocolos de condicionamento ácido / Lucélia Lemes Gonçalves. - São José dos Campos : [s.n.], 2018.
117 f. : il.

Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2018.

Orientador: Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves.

1. Dentina. 2. Metaloproteinases da matriz. 3. Colágeno. 4. Catepsina K. 5. Resistência à tração. I. Gonçalves, Sérgio Eduardo de Paiva, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Tit. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves (Orientador)

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Profa. Assist. Taciana Marco Ferraz Caneppele

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Prof. Assoc. Eduardo Bresciani

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Prof. Assoc. Flávio Henrique Baggio Aguiar

Universidade Estadual de Campinas-Unicamp
Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Campus de Piracicaba

Prof. Assoc. Eduardo Moreira da Silva

Universidade Federal Fluminense-UFF
Faculdade de Odontologia
Campus de Niterói

São José dos Campos, 03 de Dezembro de 2018.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho Àquele a quem atribuo o título de primeiro cientista do universo: **Deus.**

Não existem palavras que sejam suficientes para te louvar.

Resta a mim engrandecer o Teu nome, tornar os Teus feitos conhecidos e mostrar ao mundo Tua Grandeza.

Graças te dou Senhor!

Graças pela vida, pela família e amigos!

Graças pelo sustento diário e pelas misericórdias sem fim!

Graças por cada oportunidade a mim ofertada!

Graças pelos bons dias e também pelos maus!

Graças te dou Senhor por ter realizado algo tão maravilhoso em minha vida, sem Ti nada do que foi feito se faria!

“Deus da criação

Presente desde o início

Antes mesmo do Tempo existir

Sem nenhum ponto de referência

Falou à escuridão e a luz surgiu

Através das Suas palavras cem bilhões de galáxias passaram a existir

No vapor da Sua respiração os planetas se formaram

E se as estrelas foram feitas para te adorar

Eu também o farei!

Posso ver seu coração em tudo o que o Senhor fez

Cada estrela é um sinal da sua Graça

E se a criação canta a Ti louvores,

Eu também cantarei!”

(So will I – Hillsong)

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais **Creusa e Carmelino**, deixo o meu sincero agradecimento. Não apenas pelo apoio durante o curso, mas por toda uma vida. Obrigada por cada noite sem dormir, por cada dia de trabalho, pelas repreensões e também pelo incentivo. Obrigada, por todo esforço e sacrifícios pessoais que fizeram em meu favor. Eu não poderia ter pais melhores do que vocês, meus tesouros!

Ao meu orientador **Prof. Tit. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves**, gratidão é a palavra. *Chefe*, muito obrigada pelos últimos sete anos de convívio. Obrigada pelos ensinamentos, pelos incentivos e por cada porta aberta. Obrigada por ter me recebido de braços abertos, por toda a sua paciência e também por ter se feito amigo. Esses anos foram preciosos, não apenas pelo ganho científico, mas também porque o senhor me ajudou a crescer como pessoa. Sou grata a Deus, por ter cruzado os nossos caminhos, pois através da sua vida eu tenho sido muito abençoada, você é um exemplo. Eu sou e SEMPRE serei grata a você, pois reconheço que essa conquista é NOSSA.

À minha orientadora do doutorado-sanduíche **Profa. Dra. Anuradha Prakki**, expresso aqui o meu terno agradecimento. *Anu*, muito obrigada por ter me recebido não apenas no mundo científico, mas também em sua vida. Você é muito mais do que uma orientadora, é uma amiga. Obrigada pelos ensinamentos, oportunidades, incentivos, conselhos, cafés, risadas e apoio, não somente durante o tempo que estive no Canadá, mas que continua ainda hoje. Você marcou a minha vida de um modo muito especial. Obrigada por ser um instrumento de Deus para me ajudar alcançar essa vitória!

*To my Host Mothers **Judy and Elmira**, my special thanks! You were my family in Canada and supported me during my studies. Thanks a lot for had me in your house and hearts! I still miss you every day. I'll always be thankful! Love you!!*

AGRADECIMENTOS

Ao meu irmão **Leandro**, meu primeiro amigo e único irmão. Você sempre foi e será uma das pessoas mais importantes da minha vida. Obrigada pelo privilégio de ser Tia e conhecer um dos amores mais bonitos da vida!

Ao meu namorado **Rafael**, obrigada pelo carinho, paciência e incentivo durante a execução desse projeto. Seu apoio foi essencial. Te amo!

À minha prima **Regislaine**, melhor amiga. Obrigada por tudo!

Aos meus amigos da Pós-graduação, agradeço a todos. Graças a Deus durante esses anos, tivemos uma convivência agradável. Não cito nomes, pois são muitos. Assim, a todos vocês deixo meu agradecimento por terem feito os dias de trabalho mais alegres, pelo apoio, troca de conhecimento e também por terem marcado minha história.

À **Família Gonçalves**, obrigada! Somos tantos, alguns já se foram e outros estão chegando, por isso expresso aqui minha gratidão pela oportunidade de ter trabalhado com um grupo unido e generoso. Nós realmente trabalhamos pelo bem da equipe. Continuemos assim!

Aos meus queridos amigos da “República dos Loucos” **Tânia, Rose, Beatriz, Rodnei, Patrícia e Felipe**, entre lutas e vitórias, concordâncias e discordâncias, continuamos unidos pelo desejo de compartilhar a vida. Muito obrigada pela amizade! Amo vocês!

À minha querida amiga **Tânia**, muito obrigada por sua amizade sincera e por ter me apoiado durante todo o período da pós-graduação. Agradeço especialmente, pelo suporte que me deu durante a execução desse projeto. Nossa amizade ultrapassou as paredes da universidade e a cada dia se fortalece. Longe ou perto, é bom saber que você é uma pessoa com quem sempre posso contar. Obrigada amiga, você é Mara!

Às minhas queridas amigas **Daniele, Rayssa, Laura e Ana Júlia**, presentes da pós-graduação, obrigada por me acompanharem nessa jornada. Passamos por muita coisa juntas. Valeu a pena!

À minha amiga **Janáina Bortolatto**, muito obrigada por tudo o que fez por mim durante minha estadia em Toronto. Você é um presente de Deus! Espero poder retribuir pelo menos um pouquinho da sua generosidade.

Às queridas amigas **Graziela, Denise, Karina e Liliane**, também agradeço, pois, presença de vocês me ajudou muito durante o tempo que estive em Toronto longe da minha família.

*To my colleagues **Terry and Arwa**, thanks a lot for all your help and patience during my research. You were so kind! I hope to see you again! I deserve all the best to you guys!*

Aos Professores **Eduardo e Taciana**, pelo convívio não somente na pós-graduação, mas também na Revista BDS e nos “cafés da vida”. Vocês são pessoas especiais, amigas e sempre dispostas a ajudar! Obrigada por terem aceitado fazer parte desse momento especial e muito mais por contribuírem para o meu crescimento como profissional e pessoal. Obrigada pelos conselhos e ensinamentos. Você tem a minha admiração. Sentirei saudades!

Aos professores **Carlos, Filomena e Alessandra**, agradeço pelos ensinamentos, pelo convívio e por cada oportunidade a mim ofertada.

Ao Prof. **César Pucci**, agradeço por generosamente ter cedido alguns materiais para realização desse trabalho. Também sou grata pelo apoio e amizade durante todo o período de pós-graduação. Obrigada por ser importar!

Às Funcionárias do Departamento de Dentística **Fernanda, Josiana e Liliane**, muito obrigada! Vocês são peças fundamentais para o nosso desenvolvimento, permitindo que possamos realizar nossos trabalhos adequadamente. Obrigada por toda a ajuda!

Aos Funcionários da Secretaria de Pós-Graduação **Bruno, Carolina e Sandra**, obrigada por serem sempre solícitos. O trabalho de vocês é essencial!

Aos Funcionários da Limpeza, Manutenção e Portaria, também agradeço a cada um, pois após 13 anos dentro da universidade reconheço que a gratidão não é apenas pelo trabalho bem executado, mas também pelo carinho e amizade aqui desenvolvidos.

Agradeço à **Empresa 3M do Canadá**, por ter concedido materiais para essa pesquisa.

À **CAPES**, agradeço pelo concessão da Bolsa de Mestrado, Doutorado e Doutorado-Sanduíche.

*"Pela fé entendemos que os mundos pela palavra de **Deus** foram criados; de maneira que aquilo que se vê não foi feito do que é aparente."*

Hebreus 11:3

*Only one life, 'twill soon be past
Only whats done for Christ will last.
(autor desconhecido)*

SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	14
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Substrato dentinário – Composição, morfologia e interações	19
2.1.1 Dentina	19
2.1.2 A matriz extracelular dentinária e o colágeno Tipo I.....	20
2.1.3 Metaloproteinases da matriz extracelular e Cisteíno-catepsinas	22
2.2 Adesão ao substrato dentinário.....	26
2.3 Metodologias para análise dos componentes da interface adesiva.....	32
2.3.1 Análise por Espectroscopia Transformada de Fourier	33
2.3.2 Ensaio do tipo ELISA	34
2.3.2 Análise da resistência adesiva por ensaio de microtração	36
2.3.3 Análises micromorfológicas da interface adesiva por MEV	37
3 PROPOSIÇÃO	40
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
4.1 Comitê de ética.....	41
4.2 Delineamento experimental.....	41
4.3 Divisão dos grupos.....	40
4.4 Primeira etapa – Caracterização química do substrato dentinário	45
4.5 Preparo das amostras, testes e análises da segunda etapa do estudo	46
4.5.1 Preparo das amostras.....	46
4.5.2 Protocolo de condicionamento do colágeno	49

4.5.3	Análises de concentração de proteína total e telopeptídeos solubilizados	49
4.5.4	Teste de resistência à tração	51
4.6	Preparo das amostras, testes e análises da terceira etapa do estudo.....	53
4.6.1	Preparo das amostras.....	53
4.6.2	Procedimento restaurador.....	54
4.6.3	Teste de resistência à microtração.....	56
4.6.4	Análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	59
4.6.5	Análise de nanoinfiltração por MEV.....	60
4.7	Planejamento estatístico	61
4.7.1	Análise estatística da segunda etapa.....	61
4.7.2	Análise estatística da terceira etapa	61
5	RESULTADOS.....	63
5.1	Primeira etapa – Caracterização química do substrato dentinário por espectroscopia FTIR.....	63
5.2	Segunda etapa – Análise da degradação colagenolítica.....	67
5.2.1	Análise da concentração de proteínas, telopeptídeos solubilizados e resistência à tração	67
5.3	Terceira etapa – Análise da interface adesiva	70
5.3.1	Análise da resistência de união por meio do teste de microtração e fractografia.....	70
5.3.2	Análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	74
5.3.3	Análise de nanoinfiltração por MEV.....	76
6	DISCUSSÃO	80
7	CONCLUSÃO	93
	REFERÊNCIAS	96
	ANEXO.....	114

Gonçalves LL. Sistema adesivo universal: análise da interface adesiva e degradação colagenolítica em dentina submetida à diferentes protocolos de condicionamento ácido. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2018.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi analisar a interface adesiva do sistema adesivo Single Bond Universal (SBU) em dentina submetida à diferentes protocolos de condicionamento ácido em 24 h e 12 meses. E a degradação colagenolítica (DC) mediada por metaloproteinases (MMPs) e Catepsina-K (CAT-K) em tempo imediato. Esse estudo foi conduzido em 3 etapas: 1) Caracterização química da dentina em FTIR; 2) DC por meio de fragmentos do Telopectídeo Carboxiterminal do Colágeno Tipo I (ICTP) e do Terminal C do Telopectídeo ligado ao Colágeno Tipo I (CTX) e a resistência à tração (RT) da do colágeno; 3) Análise da interface adesiva através da resistência de união (RU), análise de fratura, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e nanoinfiltração (NI). Para FTIR foram utilizados 6 discos de dentina, divididos em 2 grupos: 1) Ácido fosfórico 32 % 15 s (AF), 2) Ácido poliacrílico 25 % 10 s (AP). Para análise da DC, 12 discos de dentina foram completamente desmineralizados e divididos em 3 grupos: 1) AF, 2) AP e 3) Água deionizada (Controle) 15 s. Após, foram incubados e armazenados por 1 semana. Seguindo-se a análise da concentração de proteína total (PT). 50 µl da solução de incubação foram utilizadas para analisar ICTP e CTX. As concentrações foram calculadas em relação à PT. Para RT, foram testados 36 palitos obtidos dos discos de colágeno. Para RU foram utilizados 48 dentes, divididos em 2 grupos, de acordo com o período de armazenamento, divididos em três subgrupos: 1) AF, 2) AP e 3) Autocondicionante SBU 20 s (SE). Os dentes foram restaurados e armazenados em água destilada 37 °C. Após, foram submetidos ao teste de microtração e análise de fraturas. Para as análises MEV e NI foram utilizados 2 espécimes de cada subgrupo. Para análise estatística utilizou-se ANOVA 1-Fator, ANOVA- 2 Fatores e teste de Tukey ($\alpha=0.05$). Para FTIR, AF reduziu a quantidade de fosfato e carbonato quando comparado ao AP. Para DC, a liberação de $ICTP_{PT}$ para AF foi significativamente maior do que para AP ($p < 0,05$). Não houve diferença na liberação de CTX_{PT} para AF e AP ($p > 0,05$). Para RT não houve diferença entre AP e Controle, porém, apresentaram valores maiores do que AF ($p < 0,05$). Para RU em MPa, não houve diferença estatisticamente significativa para todos os tratamentos nos diferentes períodos de análise ($p < 0,05$). A análise de fraturas evidenciou a predominância de fraturas adesivas e mistas. MEV mostrou melhor qualidade da interface após 12 meses para AF e AP. Após

12 meses apenas SE não apresentou NI. Assim sendo, o autocondicionamento ainda parece ser a melhor opção para sistemas adesivos universais que possuam monômeros funcionais em sua composição.

Palavras-chave: Dentina. Metaloproteinases da matriz. Colágeno. Catepsina K. Resistência à tração.

Gonçalves LL. *Universal adhesive system: analysis of adhesive interface and collagenolytic degradation of demineralized dentin submitted to different acid etching protocols [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2018.*

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the adhesive interface of the Single Bond Universal (SBU) to dentin submitted to different acid etching protocols in 24 h and 12 months, and the collagenolytic degradation (CD) by matrix metalloproteinases (MMPs) and Cathepsin-K (CAT-K) in the immediate time. This study was divided into three stages: 1) Dentin chemical characterization by FTIR; 2) CD by release of the collagen telopeptide fragment cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP), and C-terminal cross-linked telopeptide of type I collagen (CTX) and ultimate tensile strength (UTS); 3) Analysis of the adhesive interface by microtensile bond strength (μ TBS), failure mode, scanning electron microscopy (SEM) of the AI, and nanoleakage by SEM (NL). For FTIR, six dentin disks were divided into two groups: 1) Phosphoric acid 15 s (PA), 2) Polyacrylic acid 10 s (PAA). For CD twelve dentin disks were completely demineralized, then were divided into 3 groups 1) PA, 2) PAA, and 3) deionized water (Control) for 15 s. All disks were incubated in a buffered solution (BS) for 1 week. Total protein (TP) concentrations were measured using Nanodrop™ at 280 nm. 50 μ l of BS was used to analyze solubilized telopeptide fragments using ICTP and CTX. ICTP and CTX average ratios were calculated in relation to TP concentration (ICTPtp and CTXtp). For UTS, 36 dentin beams obtained from collagen disks were tested. For μ TBS, forty-eight teeth were divided into two groups according to the period of storage, then subdivided into three subgroups: 1) PA, 2) PAA, and 3) Self-etch 20 s (SE). After, composite build up, the specimens were stored in distilled water at 37 °C. Two specimens of each group were used for SEM analysis of AI and NL. Data were analyzed by one-way ANOVA, two-way ANOVA and Tukey tests ($p < 0.05$). According to the results of the FTIR etching with PA reduced the amount of phosphate and carbonate when compared to PAA. ICTPtp release of PA was significantly higher^A than PAA ($p > 0,05$). CTXtp showed no difference between the PA and PAA ($p < 0,05$). For UTS there was no difference between PAA and control, but they were significantly higher ($p < 0.05$) than PA. For μ TBS in MPa, there is no statistical difference among all the etching protocols tested, as well in both storage periods of analysis ($p < 0,05$). The most prevalent failure mode were adhesives associated with mixed. SEM analysis highlighted a better quality of AI after 12 months for PA and PAA. However, after 12 months

only SE did not show NL. Then, the self-etching protocol seems to be a better choice regarding universal adhesive systems which have functional monomers in their blend.

Keywords: Dentin. Matrix metalloproteinases. Cathepsin K. Phosphoric acid. Polyacrylic acid.

1 INTRODUÇÃO

O principal problema relacionado à adesão em dentina é a limitada longevidade dos resultados clínicos obtidos (De Munck et al., 2005). Apesar dos avanços científicos ocorridos nas últimas décadas, esse tópico ainda representa um grande desafio devido à heterogeneidade do substrato dentinário (Perdigão, 2010; Spencer et al., 2012).

Os pesquisadores tem se concentrado em elucidar os mecanismos relacionados à degradação desse substrato, a fim de desenvolver materiais que a previnam e, conseqüentemente, influenciem positivamente o desempenho adesivo longitudinal (Liu et al., 2011; Tian et al., 2015).

De um modo geral, a adesão à dentina se dá essencialmente por sua desmineralização superficial, de forma completa ou parcial, que seja pelo condicionamento ácido total ou pela ação autocondicionante, seguida da infiltração dos monômeros resinosos nas porosidades criadas por esses modelos de condicionamento na matriz de colágeno exposta (Tjäderhane et al., 2013a), que polimerizados, se interligam micromecânica e quimicamente às fibras colágenas, culminando na formação da camada híbrida.

A interface adesiva, da qual a camada híbrida é o constituinte básico, é suscetível ao estresse mecânico, ação de enzimas endógenas como, as metaloproteinases da matriz e as cisteíno-catepsinas (Breschi et al., 2018), e hidrólise do componente resinoso (Perdigão et al., 2012; Spencer et al., 2012).

O papel desempenhado pelas enzimas endógenas tem se destacado entre os fatores associados à degradação da interface adesiva, pois são elementos próprios da dentina, presentes e atuantes durante o processo de maturação do substrato, permanecendo inativas após a mineralização (Martin-De Las Heras et al., 2000; Sulkala et al., 2007, 2002). Contudo, a desmineralização resultante do

procedimento de condicionamento dentinário, promove a ativação enzimática e dá início ao processo da degradação colagenolítica (Mazzoni et al., 2006; Nishitani et al., 2006; Ozcan et al., 2015; Tezvergil-Mutluay et al., 2013).

Nesse contexto, a adesão química, destaca-se como uma possível chave para a superação da degradação longitudinal (Van Meerbeek et al., 2011, 2003; Sezinando et al., 2016). Assim, seguindo a tendência de simplificação dos procedimentos adesivos a fim de se obter rapidez na execução, menor sensibilidade à técnica e facilitar a utilização pelo cirurgião-dentista (De Munck et al., 2005), foi introduzido no mercado um versátil sistema adesivo, que pode ser utilizado de acordo com ambas estratégias de condicionamento, denominado “universal” (Hanabusa et al., 2012).

Esses adesivos têm, incorporados em sua composição, monômeros capazes de estabelecer ligações químicas com a dentina, considerados responsáveis pelo aumento da longevidade adesiva (Van Meerbeek et al., 2011, 2003; Sezinando et al., 2016), como por exemplo: 10 – MDP (10 – Metacriloxidecil Di hidrogênio Fosfato), 4-MET (4 -Metacriloxietil Trimelítico) e Fenil-P (2- Metacriloxietil Fenil Fosfato) (Yoshida and Inoue, 2012).

Contudo, uma relevante questão tem sido levantada entre os pesquisadores: adesivos universais devem ser utilizados sob condicionamento ácido total em dentina? (Loguercio et al., 2015; Zhang et al., 2016)

O ácido fosfórico (32 – 37 %) é comumente empregado nos procedimentos adesivos (Tezvergil-Mutluay et al., 2012). A sua utilização no substrato dentinário promove a remoção do Ca^{2+} , o que pode afetar negativamente as potenciais ligações químicas entre adesivo e dentina (Loguercio et al., 2015).

Considerando a ação do condicionamento ácido total com ácido fosfórico sob a dentina e a sua interação com o sistema adesivo, levantamos a possibilidade de se realizar o condicionamento do substrato dentinário com um

ácido que possua maior afinidade com componentes do sistema adesivo e de ação menos agressiva ao substrato como, o ácido poliacrílico.

O ácido poliacrílico é amplamente estudado e tem se mostrado promissor, devido às possíveis interações químicas com os monômeros funcionais, já que o seu uso promove a formação de irregularidades na superfície do substrato dentinário e de uma camada intermediária, reativa quimicamente e que favorece as trocas entre os íons presentes no adesivo e o cálcio e fosfato presente na *smear layer* parcialmente desmineralizada, promovendo melhor contato entre material e substrato (Prati et al., 1992; Tanumiharja et al., 2000), culminando na adesão química. O uso desse ácido tem sido especulado em diversos estudos relacionado à adesão em dentina (Pavan et al., 2010; Stona et al., 2013; Tanumiharja et al., 2000; Tonial et al., 2010), além de se tratar de um material popular na odontologia, de fácil aquisição e manipulação, que se adequa ao objetivo proposto.

Diversas formas de análise podem ser observadas na literatura para se avaliar o colágeno dentinário antes e após o condicionamento (DeVito-Moraes et al., 2016; Hu et al., 2015; Ozcan et al., 2015), bem como após a realização das restaurações. Dentre elas destacam-se a espectroscopia FTIR (Botta et al., 2012; Lopes et al., 2018; Ubaldini et al., 2013), as microscopias eletrônicas de varredura (MEV) (Al-Assaf et al., 2007; Moura et al., 2006; Pereira et al., 2014) e de transmissão (MET) (Suppa et al., 2005), a zimografia (Gu et al., 2018), os testes de resistência imediato e longitudinal de microtração (Marchesi et al., 2014; Muñoz et al., 2013; Wagner et al., 2014) e microcisalhamento (Hariri et al., 2012), difração de raios-X (Yuan et al., 2007), microscopia confocal (Wagner et al., 2014), etc. . Assim, a análise comparativa do comportamento entre os ácidos utilizados para condicionamento dentinário através de algumas delas, pode oferecer elementos essenciais para a previsibilidade do sucesso da técnica.

Desse modo, o objetivo desse trabalho foi caracterizar quimicamente o substrato dentinário, analisar a degradação colágenolítica e a interface adesiva de um sistema adesivo universal submetido à diferentes protocolos de condicionamento ácido.

5 CONCLUSÃO

Desse modo, ao considerarmos todas as análises, podemos concluir que o uso do ácido poliacrílico 25 % previamente à aplicação de SBU pode ser realizado, pois o mesmo apresenta resultados semelhantes aos protocolos de condicionamento convencionais. Contudo, o fato do mesmo não apresentar características superiores, o torna uma escolha menos atrativa em relação aos demais protocolos. Todavia, ao ser comparado com o ácido fosfórico pode representar um tipo de condicionamento menos agressivo ao substrato. Assim sendo, o autocondicionamento ainda parece ser a melhor opção para sistemas adesivos universais que possuam monômeros funcionais em sua composição.

REFERÊNCIAS*

- Agee K, Zhang Y, Pashley DH. Effects of acids and additives on the susceptibility of human dentine to denaturation. *J Oral Rehabil.* 2000. doi: 10.1046/j.1365-2842.2000.00492.x. PMID: 10672150.
- Al-Assaf K, Chakmakchi M, Palaghias G, Karanika-Kouma A, Eliades G. Interfacial characteristics of adhesive luting resins and composites with dentine. *Dent Mater.* 2007. doi: 10.1016/j.dental.2006.06.023. PMID: 16934865.
- Anchieta RB, Oliveira FG, Sundfeld RH, Rahal V, Machado LS, Alexandre RS, et al. Analysis of hybrid layer thickness, resin tag length and their correlation with microtensile bond strength using a total etch adhesive to intact dentin. *Acta Odontol Latinoam.* 2011. PMID: 22550821.
- Andrew Chan KL, Kazarian SG. Attenuated total reflection Fourier-transform infrared (ATR-FTIR) imaging of tissues and live cells. *Chem Soc Rev.* 2016. doi: 10.1039/c5cs00515a. PMID: 26488803.
- Armstrong S, Breschi L, Özcan M, Pfefferkorn F, Ferrari M, Van Meerbeek B. Academy of Dental Materials guidance on in vitro testing of dental composite bonding effectiveness to dentin/enamel using micro-tensile bond strength (μ TBS) approach. *Dent Mater.* 2017. doi: 10.1016/j.dental.2016.11.015. PMID: 28007396.
- Bachmann L, Gomes ASL, Zezell DM. Collagen absorption bands in heated and rehydrated dentine. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc.* 2005. doi: 10.1016/j.saa.2005.03.025. PMID: 15950533.
- Bedran-Russo AK, Pauli GF, Chen SN, McAlpine J, Castellan CS, Phansalkar RS, et al. Dentine biomodification: Strategies, renewable resources and clinical applications. *Dent Mater.* 2014. doi: 10.1016/j.dental.2013.10.012. PMID: 24309436.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jan 2017]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Botta SB, Ana PA, Santos MO, Zezell DM, Matos AB. Effect of dental tissue conditioners and matrix metalloproteinase inhibitors on type I collagen microstructure analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2012. doi: 10.1002/jbm.b.32666. PMID: 22287052.

Boukpepsi T, Menashi S, Camoin L, TenCate JM, Goldberg M, Chaussain-Miller C. The effect of stromelysin-1 (MMP-3) on non-collagenous extracellular matrix proteins of demineralized dentin and the adhesive properties of restorative resins. *Biomaterials*. 2008. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.07.035. PMID: 18760468.

Breschi L, Maravic T, Cunha SR, Comba A, Cadenaro M, Tjäderhane L, et al. Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dent Mater*. 2018. doi: 10.1016/j.dental.2017.11.005. PMID: 29179971.

Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater*. 2008. doi: 10.1016/j.dental.2007.02.009. PMID: 17442386.

Brinckmann J, Notbohm H, Müller PK. *Collagen: Primer in Structure, Processing and Assembly*. 2005. doi: 10.1007/b103818.

Carvalho RM, Tjäderhane L, Manso AP, Carrilho, M. R. &, Carvalho CAR. Dentin as a bonding substrate. *Endod Top*. 2012. doi: 10.1111/j.1601-1546.2012.00274.x.

Causton BE, Johnson NW. Changes in the dentine of human teeth following extraction and their implication for in-vitro studies of adhesion to tooth substance. *Arch Oral Biol*. 1979. doi: 10.1016/0003-9969(79)90145-6. PMID: 383050.

Dayan D, Binderman I, Mechanic GL. A preliminary study of activation of collagenase in carious human dentine matrix. *Arch Oral Biol*. 1983. doi: 10.1016/0003-9969(83)90126-7. PMID: 6307237.

DeVito-Moraes AG, Francci C, Vidal CMP, Scaffa PMC, Nesadal D, Yamasaki

LC, et al. Phosphoric acid concentration affects dentinal MMPs activity. *J Dent*. 2016. doi: 10.1016/j.jdent.2016.06.002. PMID: 27327109.

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. doi: 10.1177/154411130201300304. PMID: 12090464.

Eckert GJ, Platt JA. A statistical evaluation of microtensile bond strength methodology for dental adhesives. *Dent Mater*. 2007. doi: 10.1016/j.dental.2006.02.007. PMID: 16540162.

Eliades G, Palaghias G, Vougiouklakis G. Effect of acidic conditioners on dentin morphology, molecular composition and collagen conformation in situ. *Dent Mater*. 1997.

Fedarko NS, Jain A, Karadag A, Fisher LW. Three small integrin binding ligand N-linked glycoproteins (SIBLINGs) bind and activate specific matrix metalloproteinases. *FASEB J*. 2004. doi: 10.1096/fj.03-0966fje. PMID: 14766790.

El Feninat F, Ellis TH, Sacher E, Stangel I. Moisture-dependent renaturation of collagen in phosphoric acid etched human dentin. *J Biomed Mater Res*. 1998. doi: 10.1002/(SICI)1097-4636(19981215)42:4<549::AID-JBM10>3.0.CO;2-L. PMID: 9827678.

Frassetto A, Breschi L, Turco G, Marchesi G, Di Lenarda R, Tay FR, et al. Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability - A literature review. *Dent Mater*. 2016. doi: 10.1016/j.dental.2015.11.007. PMID: 26743967.

Fukegawa D, Hayakawa S, Yoshida Y, Suzuki K, Osaka A, Van Meerbeek B. Chemical interaction of phosphoric acid ester with hydroxyapatite. *J Dent Res*. 2006. doi: 10.1177/154405910608501014. PMID: 16998137.

Fukuda R, Yoshida Y, Nakayama Y, Okazaki M, Inoue S, Sano H, et al. Bonding efficacy of polyalkenoic acids to hydroxyapatite, enamel and dentin. *Biomaterials*. 2003. doi: 10.1016/S0142-9612(02)00575-6. PMID: 12615476.

Fung DT, Wang VM, Laudier DM, Shine JH, Basta-Pljakic J, Jepsen KJ, et al. Subrupture tendon fatigue damage. *J Orthop Res*. 2009. doi: 10.1002/jor.20722. PMID: 18683881.

Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol*. 1976. doi: 10.1016/S0003-9969(76)80003-9. PMID: 1066114.

Garnero P, Borel O, Byrjalsen I, Ferreras M, Drake FH, McQueney MS, et al. The collagenolytic activity of cathepsin K is unique among mammalian proteinases. *J Biol Chem*. 1999. doi: 10.1074/jbc.273.48.32347. PMID: 9822715.

Grunenwald A, Keyser C, Sautereau AM, Crubézy E, Ludes B, Drouet C. Revisiting carbonate quantification in apatite (bio)minerals: A validated FTIR methodology. *J Archaeol Sci*. 2014. doi: 10.1016/j.jas.2014.05.004.

Gu L, Mazzoni A, Gou Y, Pucci C, Breschi L, Pashley DH, et al. Zymography of Hybrid Layers Created Using Extrafibrillar Demineralization. *J Dent Res*. 2018. doi: 10.1177/0022034517747264. PMID: 29172973.

Habelitz S, Balooch M, Marshall SJ, Balooch G, Marshall GW. In situ atomic force microscopy of partially demineralized human dentin collagen fibrils. *J Struct Biol*. 2002. doi: 10.1016/S1047-8477(02)00029-1. PMID: 12217661.

Hanabusa M, Mine A, Kuboki T, Momoi Y, Van Ende A, Van Meerbeek B, et al. Bonding effectiveness of a new “multi-mode” adhesive to enamel and dentine. *J Dent*. 2012. doi: 10.1016/j.jdent.2012.02.012. PMID: 22381614.

Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand*. 2007. doi: 10.1080/00016350600963640. PMID: 17354089.

Hariri I, Shimada Y, Sadr A, Ichinose S, Tagami J. The effects of aging on shear bond strength and nanoleakage expression of an etch-and-rinse adhesive on human enamel and dentin. *J Adhes Dent*. 2012. doi: 10.3290/j.jad.a22192. PMID: 22043472.

HASHIMOTO M, FUJITA S, ENDO K, OHNO H. Effect of dentinal water on bonding of self-etching adhesives. *Dent Mater J*. 2009. doi: 10.4012/dmj.28.634. PMID: 19822996.

Heintze SD, Rousson V, Mahn E. Bond strength tests of dental adhesive systems and their correlation with clinical results - A meta-analysis. *Dent Mater*. 2015. doi: 10.1016/j.dental.2015.01.011. PMID: 25711699.

Hiraishi N, Tochio N, Kigawa T, Otsuki M, Tagami J. Monomer-collagen interactions studied by saturation transfer difference NMR. *J Dent Res*. 2013. doi: 10.1177/0022034512474310. PMID: 23340212.

Hu L, Xiao YH, Fang M, Gao Y, Huang L, Jia AQ, et al. Effects of type I collagen degradation on the durability of three adhesive systems in the early phase of dentin bonding. *PLoS One*. 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0116790. PMID: 25689141.

Inoue S, Van Meerbeek B, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, et al. Effect of remaining dentin thickness and the use of conditioner on micro-tensile bond strength of a glass-ionomer adhesive. *Dent Mater*. 2001. doi: 10.1016/S0109-5641(01)00003-3. PMID: 11445212.

Karsdal MA, Woodworth T, Henriksen K, Maksymowych WP, Genant H, Vergnaud P, et al. Biochemical markers of ongoing joint damage in rheumatoid arthritis - current and future applications, limitations and opportunities. *Arthritis Res Ther*. 2011. doi: 10.1186/ar3280. PMID: 21539724.

Khanarian NT, Boushell MK, Spalazzi JP, Pleshko N, Boskey AL, Lu HH. FTIR-I compositional mapping of the cartilage-to-bone interface as a function of tissue region and age. *J Bone Miner Res*. 2014. doi: 10.1002/jbmr.2284. PMID: 24839262.

Kim J, Mai S, Carrilho MR, Yiu CKY, Pashley DH, Tay FR. An all-in-one adhesive does not etch beyond hybrid layers. *J Dent Res*. 2010. doi: 10.1177/0022034510363665. PMID: 20200420.

Kramer RZ, Bella J, Brodsky B, Berman HM. The crystal and molecular structure of a collagen-like peptide with a biologically relevant sequence. *J Mol*

Biol. 2001. doi: 10.1006/jmbi.2001.4849. PMID: 11469863.

Landis WJ, Jacquet R. Association of calcium and phosphate ions with collagen in the mineralization of vertebrate tissues. *Calcif Tissue Int.* 2013. doi: 10.1007/s00223-013-9725-7. PMID: 23543143.

Lawson NC, Robles A, Fu CC, Lin CP, Sawlani K, Burgess JO. Two-year clinical trial of a universal adhesive in total-etch and self-etch mode in non-carious cervical lesions. *J. Dent.* 2015 . doi: 10.1016/j.jdent.2015.07.009. PMID: 26231300.

Li H, Burrow MF, Tyas MJ. Nanoleakage patterns of four dentin bonding systems. *Dent Mater.* 2000. doi: 10.1016/S0109-5641(99)00085-8. PMID: 11317409.

Lin A, McIntyre NS, Davidson RD. Studies on the adhesion of glass-ionomer cements to dentin. *J Dent Res.* 1992. doi: 10.1177/00220345920710111401. PMID: 1401448.

Liu Y, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, et al. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res.* 2011. doi: 10.1177/0022034510391799. PMID: 21220360.

Liu Y, Wang Y. Proanthocyanidins' efficacy in stabilizing dentin collagen against enzymatic degradation: MALDI-TOF and FTIR analyses. *J Dent.* 2013. doi: 10.1016/j.jdent.2013.03.007. PMID: 23578472.

Loguercio AD, De Paula EA, Hass V, Luque-Martinez I, Reis A, Perdigão J. A new universal simplified adhesive: 36-Month randomized double-blind clinical trial. *J Dent.* 2015. doi: 10.1016/j.jdent.2015.07.005. PMID: 26159382.

Lopes C de CA, Limirio PHJO, Novais VR, Dechichi P. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) application chemical characterization of enamel, dentin and bone. *Appl Spectrosc Rev.* 2018. doi: 10.1080/05704928.2018.1431923.

Makishi P, André C, Ayres A, Martins A, Giannini M. Effect of Storage Time on Bond Strength and Nanoleakage Expression of Universal Adhesives Bonded

to Dentin and Etched Enamel. *Oper Dent*. 2016. doi: 10.2341/15-163-L. PMID: 26666389.

Makishi P, Thitthaweerat S, Sadr A, Shimada Y, Martins AL, Tagami J, et al. Assessment of current adhesives in class I cavity: Nondestructive imaging using optical coherence tomography and microtensile bond strength. *Dent Mater*. 2015. doi: 10.1016/j.dental.2015.06.013. PMID: 26183294.

Marchesi G, Frassetto A, Mazzoni A, Apolonio F, Diolosà M, Cadenaro M, et al. Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-Year in vitro study. *J Dent*. 2014. doi: 10.1016/j.jdent.2013.12.008. PMID: 24373855.

Marimoto A, Cunha L, Yui K, Huhtala M, Barcellos D, Prakki A, et al. Influence of Nd:YAG Laser on the Bond Strength of Self-etching and Conventional Adhesive Systems to Dental Hard Tissues. *Oper Dent*. 2013. doi: 10.2341/11-383-L. PMID: 23215546.

Marshall GW. Dentin: microstructure and characterization. *Quintessence Int*. 1993. doi: 10.1016/0029-7844(94)00457-O. PMID: 8272499.

Martin-De Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. *Arch Oral Biol*. 2000. doi: 10.1016/S0003-9969(00)00052-2. PMID: 10869489.

Mazzoni A, Breschi L, Carrilho M, Nascimento FD, Orsini G, Ruggeri Jr A, et al. A review of the nature, role, and function of dentin non-collagenous proteins. Part II: enzymes, serum proteins, and growth factors. *Endod Top*. 2012. doi: 10.1111/j.1601-1546.2012.00268.x.

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*. 2011a. doi: 10.1016/j.jdent.2011.04.004. PMID: 21554921.

Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GAM, Papa S, Mazzotti G, et al. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res*. 2007. doi: 10.1177/154405910708600509. PMID: 17452564.

Mazzoni A, Papa V, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, Ruggeri A, et al. Immunohistochemical and biochemical assay of MMP-3 in human dentine. *J Dent*. 2011b. doi: 10.1016/j.jdent.2011.01.001. PMID: 21215789.

Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, et al. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials*. 2006. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.01.040. PMID: 16687171.

Mazzoni A, Pashley DH, Tay FR, Gobbi P, Orsini G, Ruggeri A, et al. Immunohistochemical identification of MMP-2 and MMP-9 in human dentin: Correlative FEI-SEM/TEM analysis. *J Biomed Mater Res - Part A*. 2009. doi: 10.1002/jbm.a.31920. PMID: 18335530.

Mazzoni A, Scaffa P, Carrilho M, Tjäderhane L, Di Lenarda R, Polimeni A, et al. Effects of etch-and-rinse and self-etch adhesives on dentin MMP-2 and MMP-9. *J Dent Res*. 2013. doi: 10.1177/0022034512467034. PMID: 23128110.

Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, et al. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *J Dent Res*. 2015. doi: 10.1177/0022034514562833. PMID: 25535202.

Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological Aspects of the Resin-Dentin Interdiffusion Zone with Different Dentin Adhesive Systems. *J Dent Res*. 1992. doi: 10.1177/00220345920710081301. PMID: 1506519.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003. PMID: 12760693.

Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, et al. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater*. 2010. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.148. PMID: 20006379.

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. doi: 10.1016/j.dental.2010.10.023. PMID: 21109301.

Miguez P, Pereira P, Atsawasuwan P, Yamauchi M. Collagen Cross-linking and Ultimate Tensile Strength in Dentin. *J Dent Res*. 2004. doi: 10.1177/154405910408301014. PMID: 15381724.

Mitra SB, Lee CY, Bui HT, Tantbirojn D, Rusin RP. Long-term adhesion and mechanism of bonding of a paste-liquid resin-modified glass-ionomer. *Dent Mater*. 2009. doi: 10.1016/j.dental.2008.09.008. PMID: 19041127.

Miura J, Nishikawa K, Kubo M, Fukushima S, Hashimoto M, Takeshige F, et al. Accumulation of advanced glycation end-products in human dentine. *Arch Oral Biol*. 2014. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.10.012. PMID: 24370182.

Moura SK, Santos JFF, Ballester RY. Morphological characterization of the tooth/adhesive interface. *Braz Dent J*. 2006. doi: 10.1590/S0103-64402006000300001. PMID: 17262121.

De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: Methods and results. *J Dent Res*. 2005. doi: 10.1177/154405910508400204. PMID: 15668328.

De Munck J, Mine A, Van den 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. doi: 10.1111/j.1600-0722.2010.00758.x. PMID: 20831584.

De Munck J, Van Den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, et al. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *J Dent Res*. 2009. doi: 10.1177/0022034509346952. PMID: 19861692.

Muñoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NHC. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent*. 2013. doi: 10.1016/j.jdent.2013.03.001. PMID: 23499568.

Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem*. 1997. PMID: 9165065.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982. doi: 10.1002/jbm.820160307. PMID: 7085687.

Nakabayashi N, Pashley D. *Hybridization of Dental Hard Tissues.* Chicago Quintessence. 1998.

Nascimento FD, Minciotti CL, Geraldeli S, Carrilho MR, Pashley DH, Tay FR, et al. Cysteine cathepsins in human carious dentin. *J. Dent. Res.* 2011 . doi: 10.1177/0022034510391906. PMID: 21248362.

Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, et al. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2006. doi: 10.1111/j.1600-0722.2006.00342.x. PMID: 16630309.

Obermajer N, Jevnikar Z, Doljak B, Kos J. Role of cysteine cathepsins in matrix degradation and cell signalling. *Connect Tissue Res.* 2008. doi: 10.1080/03008200802143158. PMID: 18661341.

Orsini G, Jr AR, Mazzoni A, Nato F, Manzoli L, Putignano A, et al. A review of the nature , role , and function of dentin non-collagenous proteins . Part 1 : proteoglycans and glycoproteins. *Endod Top.* 2012. doi: 10.1111/j.1601-1546.2012.00268.x.

Ozcan S, Seseogullari-Dirihan R, Uctasli M, Tay FR, Pashley DH, Tezvergil-Mutluay A. Effect of polyacrylic acid on dentin protease activities. *Dent Mater.* 2015. doi: 10.1016/j.dental.2015.04.018. PMID: 26003232.

Özok AR, Wu MK, De Gee AJ, Wesselink PR. Effect of dentin perfusion on the sealing ability and microtensile bond strengths of a total-etch versus an all-in-one adhesive. *Dent Mater.* 2004. doi: 10.1016/j.dental.2003.07.004. PMID: 15081555.

Parikh SJ, Chorover J. FTIR spectroscopic study of biogenic Mn-oxide formation by *Pseudomonas putida* GB-1. *Geomicrobiol J.* 2005. doi: 10.1080/01490450590947724.

Pashley DH. Dynamics of the pulpo-dentin complex. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1996. doi: 10.1177/10454411960070020101. PMID: 8875027.

Pashley DH, Agee KA, Wataha JC, Rueggeberg F, Ceballos L, Itou K, et al. Viscoelastic properties of demineralized dentin matrix. *Dent Mater*. 2003. doi: 10.1016/S0109-5641(03)00016-2. PMID: 14511727.

Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent*. 1997. doi: 10.1016/S0300-5712(96)00057-7. PMID: 9241954.

Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, et al. The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent*. 1999. doi: 10.1016/S1091-0012(99)00040-8 [pii]. PMID: 11725659.

Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*. 2011. doi: 10.1016/j.dental.2010.10.016. PMID: 21112620.

Pashley DH, Tay FR, Carvalho RM, Rueggeberg FA, Agee KA, Carrilho M, et al. From dry bonding to water-wet bonding to ethanol-wet bonding. A review of the interactions between dentin matrix and solvated resins using a macromodel of the hybrid layer. *Am J Dent*. 2007. PMID: 17380802.

Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*. 2004. doi: 10.1177/154405910408300306. PMID: 14981122.

Pavan S, Dos Santos PH, Berger S, Bedran-Russo AKB. The effect of dentin pretreatment on the microtensile bond strength of self-adhesive resin cements. *J Prosthet Dent*. 2010. doi: 10.1016/S0022-3913(10)60134-5. PMID: 20875530.

Perdigão J. Dentin bonding-Variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater*. 2010. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.149. PMID: 20005565.

Perdigão J, Sezinando A, Monteiro PC. Laboratory bonding ability of a multi-purpose dentin adhesive. *Am J Dent*. 2012. PMID: 22988685.

Pereira CNDB, Daleprane B, Barbosa PF, Moreira AN, De Magalhães CS. Qualitative evaluation of scanning electron microscopy methods in a study of the resin cement/dentine adhesive interface. *Microsc Microanal*. 2014. doi: 10.1017/S143192761301369X. PMID: 24188716.

Pioch T, Staehle HJ, Duschner H, García-Godoy F. Nanoleakage at the composite-dentin interface: A review. *Am J Dent*. 2001. PMID: 11699747.

Prati C, Montanari G, Biagini G, Fava F, Pashley DH. Effects of dentin surface treatments on the shear bond strength of vitrabond. *Dent Mater*. 1992. doi: 10.1016/0109-5641(92)90048-H. PMID: 24753797.

Rainey JK, Goh MC. A statistically derived parameterization for the collagen triple-helix. *Protein Sci*. 2009. doi: 10.1110/ps.0218502. PMID: 12381857.

Roeder L, Pereira PNR, Yamamoto T, Ilie N, Armstrong S, Ferracane J. Spotlight on bond strength testing - Unraveling the complexities. *Dent Mater*. 2011. doi: 10.1016/j.dental.2011.08.396. PMID: 21944280.

Da Rosa WLDO, Piva E, Da Silva AF. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis. *J Dent*. 2015. doi: 10.1016/j.jdent.2015.04.003. PMID: 25882585.

Sano H. Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation of resin-dentin bonds. *J Dent Res*. 2006. doi: 10.1177/154405910608500102. PMID: 16373674.

Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength - Evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater*. 1994. doi: 10.1016/0109-5641(94)90067-1. PMID: 7664990.

Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent*. 1995a. PMID: 8700762.

Sano H, Yoshiyama M, Ebisu S, Burrow MF, Takatsu T, Ciucchi B, et al. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. *Oper Dent*. 1995b. PMID: 8700785.

Sato C, Rodrigues FA, Garcia DM, Vidal CMP, Pashley DH, Tjäderhane L, et al. Tooth bleaching increases dentinal protease activity. *J Dent Res*. 2013. doi: 10.1177/0022034512470831. PMID: 23242228.

Schlueter RJ, Veis A. The Macromolecular Organization of Dentine Matrix Collagen. II. Periodate Degradation and Carbohydrate Cross-Linking. *Biochemistry*. 1964. doi: 10.1021/bi00899a010. PMID: 14235325.

Sezinando A, Luque-Martinez I, Muñoz MA, Reis A, Loguercio AD, Perdigão J. Influence of a hydrophobic resin coating on the immediate and 6-month dentin bonding of three universal adhesives. *Dent Mater*. 2015. doi: 10.1016/j.dental.2015.07.002. PMID: 24508503.

Sezinando A, Serrano ML, Pérez VM, Muñoz RAG, Ceballos L, Perdigão J. Chemical Adhesion of Polyalkenoate-based Adhesives to Hydroxyapatite. *J Adhes Dent*. 2016. doi: 10.3290/j.jad.a36222. PMID: 27341385.

Shinno Y, Ishimoto T, Saito M, Uemura R, Arino M, Marumo K, et al. Comprehensive analyses of how tubule occlusion and advanced glycation end-products diminish strength of aged dentin. *Sci Rep*. 2016. doi: 10.1038/srep19849. PMID: 26797297.

Silva ZS, Botta SB, Ana PA, França CM, Fernandes KPS, Mesquita-Ferrari RA, et al. Effect of papain-based gel on type I collagen - spectroscopy applied for microstructural analysis. *Sci Rep*. 2015. doi: 10.1038/srep11448. PMID: 26101184.

Singh V, Misra A, Marangos O, Park J, Ye Q, Kieweg SL, et al. Viscoelastic and fatigue properties of model methacrylate-based dentin adhesives. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2010. doi: 10.1002/jbm.b.31712. PMID: 20848661.

Spencer P, Ye Q, Park J, Misra A, Bohaty BS, Singh V, et al. Durable Bonds at the Adhesive/Dentin Interface: An Impossible Mission or Simply a Moving Target? *Brazilian Dent Sci*. 2012. PMID: 24855586.

Spencer P, Ye Q, Park J, Topp EM, Misra A, Marangos O, et al. Adhesive/dentin interface: The weak link in the composite restoration. *Ann*

Biomed Eng. 2010. doi: 10.1007/s10439-010-9969-6. PMID: 20195761.

Stona P, Borges GA, Montes MAJR, Júnior LHB, Weber JBB, Spohr AM. Effect of polyacrylic acid on the interface and bond strength of self-adhesive resin cements to dentin. *J Adhes Dent*. 2013. doi: 10.3290/j.jad.a29531. PMID: 23560256.

Van Strijp AJP, Jansen DC, DeGroot J, Ten Cate JM, Everts V. Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ. *Caries Res*. 2003. doi: 10.1159/000068223. PMID: 12566641.

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. doi: 10.1177/154405910208100905. PMID: 12202640.

Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Arch Oral Biol*. 2007. doi: 10.1016/j.archoralbio.2006.08.009. PMID: 17045563.

Suppa P, Breschi L, Ruggeri A, Mazzotti G, Prati C, Chersoni S, et al. Nanoleakage within the hybrid layer: A correlative FEISEM/TEM investigation. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2005. doi: 10.1002/jbm.b.30217. PMID: 15678495.

Sylvester MF, Yannas I V., Salzman EW, Forbes MJ. Collagen banded fibril structure and the collagen-platelet reaction. *Thromb Res*. 1989. doi: 10.1016/0049-3848(89)90463-5. PMID: 2506660.

Tallant C, Marrero A, Gomis-Rüth FX. Matrix metalloproteinases: Fold and function of their catalytic domains. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*. 2010. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.04.003. PMID: 19374923.

Tanumiharja M, Burrow MF, Tyas MJ. Microtensile bond strengths of glass ionomer (polyalkenoate) cements to dentine using four conditioners. *J Dent*. 2000. doi: 10.1016/S0300-5712(00)00009-9. PMID: 10785303.

Tay F, King N, Chan K, Pashley D. How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously? *J Adhes Dent*.

2002. doi: Article. PMID: 12666745.

Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent*. 2002. doi: 10.1016/S0300-5712(02)00064-7. PMID: 12554121.

Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res*. 2002. doi: 10.1177/154405910208100708. PMID: 12161459.

Tekçe N, Tuncer S, Demirci M, Balci S. Do matrix metalloproteinase inhibitors improve the bond durability of universal dental adhesives? *Scanning*. 2016. doi: 10.1002/sca.21293. PMID: 26763084.

Tersariol IL, Geraldeli S, Minciotti CL, Nascimento FD, Pääkkönen V, Martins MT, et al. Cysteine Cathepsins in Human Dentin-Pulp Complex. *J Endod*. 2010. doi: 10.1016/j.joen.2009.12.034. PMID: 20171366.

Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Mazzoni A, Carvalho RM, Carrilho M, Tersariol IL, et al. Can quaternary ammonium methacrylates inhibit matrix MMPs and cathepsins? *Dent Mater*. 2015. doi: 10.1016/j.dental.2014.10.006. PMID: 25467953.

Tezvergil-Mutluay A, Mutluay M, Seseogullari-Dirihan R, Agee KA, Key WO, Scheffel DLS, et al. Effect of phosphoric acid on the degradation of human dentin matrix. *J Dent Res*. 2013. doi: 10.1177/0022034512466264. PMID: 23103634.

Tezvergil-Mutluay A, Mutluay M, Seseogullari-Dirihan R, Agee KA, Key WO, Scheffel DLS, et al. Effect of Phosphoric Acid on the Degradation of Human Dentin Matrix. *J Dent Res*. 2012. doi: 10.1177/0022034512466264. PMID: 23103634.

Tian F, Zhou L, Zhang Z, Niu L, Zhang L, Chen C, et al. Paucity of nanolayering in resin-dentin interfaces of MDP-based adhesives. *J Dent Res*. 2015. doi: 10.1177/0022034515623741. PMID: 26701351.

Tjäderhane L. Dentin Bonding: Can We Make it Last? *Oper Dent*. 2015. doi:

10.2341/14-095-BL. PMID: 25615637.

Tjäderhane L, Buzalaf MAR, Carrilho M, Chaussain C. Matrix metalloproteinases and other matrix proteinases in relation to cariology: The era of “dentin degradomics.” *Caries Res.* 2015. doi: 10.1159/000363582. PMID: 25661522.

Tjäderhane L, Carrilho MR, Breschi L, Tay FR, Pashley DH. Dentin basic structure and composition-an overview. *Endod Top.* 2009. doi: 10.1111/j.1601-1546.2012.00269.x.

Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res.* 1998. doi: 10.1177/00220345980770081001. PMID: 9719036.

Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol ILS, Geraldeli S, et al. Optimizing dentin bond durability: Control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater.* 2013a. doi: 10.1016/j.dental.2012.08.004. PMID: 22901826.

Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol ILS, Geraldeli S, et al. Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer—A review. *Dent Mater.* 2013b. doi: 10.1016/j.dental.2013.07.016. PMID: 23953737.

Tonial D, Ghiggi PC, Lise AA, Burnett LH, Oshima HMS, Spohr AM. Effect of conditioner on microtensile bond strength of self-adhesive resin cements to dentin. *Stomatologija.* 2010. doi: 103-02 [pii]. PMID: 21063136.

Turco G, Cadenaro M, Maravić T, Frassetto A, Marsich E, Mazzoni A, et al. Release of ICTP and CTX telopeptides from demineralized dentin matrices: Effect of time, mass and surface area. *Dent Mater.* 2018. doi: 10.1016/j.dental.2017.12.003.

Turco G, Frassetto A, Fontanive L, Mazzoni A, Cadenaro M, Di Lenarda R, et al. Occlusal loading and cross-linking effects on dentin collagen degradation in physiological conditions. *Dent Mater.* 2016. doi: 10.1016/j.dental.2015.11.026.

PMID: 26743966.

Ubal dini ALM, Baesso ML, Medina Neto A, Sato F, Bento AC, Pascotto RC. Hydrogen peroxide diffusion dynamics in dental tissues. *J Dent Res*. 2013. doi: 10.1177/0022034513488893. PMID: 23632810.

Uno S FWJ. Function of the hybrid zone as a stress-absorbing layer in resin-dentin bonding. *Oper Dent*. 1995. doi: Article.

Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J. Recent advances in the theory and mechanism of adhesive resin bonding to dentin: A critical review. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2009. doi: 10.1002/jbm.b.31253. PMID: 18975378.

Weis A. Mineralization in Organic Matrix Frameworks. *Rev Mineral Geochemistry*. 2003. doi: 10.2113/0540249.

Vidal CMP, Tjäderhane L, Scaffa PM, Tersariol IL, Pashley D, Nader HB, et al. Abundance of MMPs and cysteine cathepsins in caries-affected dentin. *J Dent Res*. 2014. doi: 10.1177/0022034513516979. PMID: 24356440.

Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, function, and biochemistry. *Circ Res*. 2003. doi: 10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D. PMID: 12730128.

Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *J Dent*. 2014. doi: 10.1016/j.jdent.2014.04.012. PMID: 24814138.

Wilson CR. Methods for Analysis of Gastrointestinal Toxicants. *Compr. Toxicol*. Second Ed.2010 . doi: 10.1016/B978-0-08-046884-6.00845-9.

Yamauchi M, Shiiba M. Lysine hydroxylation and cross-linking of collagen. *Methods Mol Biol*. 2008. doi: 10.1007/978-1-60327-84-7_7. PMID: 18373252.

Yang B, Adelung R, Ludwig K, Bößmann K, Pashley DH, Kern M. Effect of structural change of collagen fibrils on the durability of dentin bonding.

Biomaterials. 2005. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.01.024. PMID: 15769538.

Yoshida Y, Inoue S. Chemical analyses in dental adhesive technology. *Jpn Dent Sci Rev.* 2012. doi: 10.1016/j.jdsr.2012.03.001. PMID: 6995.

Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Yoshioka M, Snauwaert J, Abe Y, et al. Adhesion to and decalcification of hydroxyapatite by carboxylic acids. *J Dent Res.* 2001. doi: 10.1177/00220345010800061701. PMID: 11499514.

Yoshida Y, VanMeerbeek B, Nakayama Y, Snauwaert J, Hellemans L, Lambrechts P, et al. Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces. *J Dent Res.* 2000. doi: 10.1177/00220345000790020301. PMID: 10728971.

Yoshida Y, Yoshihara K, Nagaoka N, Hayakawa S, Torii Y, Ogawa T, et al. Self-assembled nano-layering at the adhesive interface. *J Dent Res.* 2012. doi: 10.1177/0022034512437375. PMID: 22302145.

Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T, et al. Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomater.* 2011. doi: 10.1016/j.actbio.2011.04.026. PMID: 21575747.

Yoshioka M, Yoshida Y, Inoue S, Lambrechts P, Vanherle G, Nomura Y, et al. Adhesion/decalcification mechanisms of acid interactions with human hard tissues. *J Biomed Mater Res.* 2002. doi: 10.1002/jbm.1216. PMID: 11745537.

Yuan Y, Shimada Y, Ichinose S, Tagami J. Qualitative analysis of adhesive interface nanoleakage using FE-SEM/EDS. *Dent Mater.* 2007. doi: 10.1016/j.dental.2006.03.015. PMID: 16765432.

Zhang Z yi, Tian F cong, Niu L na, Ochala K, Chen C, Fu B ping, et al. Defying ageing: An expectation for dentine bonding with universal adhesives? *J Dent.* 2016. doi: 10.1016/j.jdent.2015.11.008. PMID: 26655173.

Zheng P, Zaruba M, Attin T, Wiegand A. Effect of different matrix metalloproteinase inhibitors on microtensile bond strength of an etch-and-rinse and a self-etching adhesive to dentin. *Oper Dent.* 2014. doi: 10.2341/13-162-L. PMID: 24815915.

