

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 01/03/2021.



UNESP – Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Mariana Citta

**Estabilidade mecânica e atividade proteolítica de interfaces produzidas com a
técnica de adesão seca à dentina biomodificada**

Araraquara

2019



UNESP – Universidade Estadual Paulista
“ Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Mariana Citta

Estabilidade mecânica e atividade proteolítica de interfaces produzidas com a técnica de adesão seca à dentina biomodificada

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação em Reabilitação Oral, na Área de Prótese.

Orientadora: Profa. Dra. Josimeri Hebling

Araraquara

2019

Citta, Mariana

Estabilidade mecânica e atividade proteolítica de interfaces produzidas com a técnica de adesão seca à dentina biomodificada / Mariana Citta. -- Araraquara: [s.n.], 2019 70 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) –
Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia
Orientadora: Profa. Dra. Josimeri Hebling

1. Adesivos dentinários 2. Envelhecimento 3. Dentina
4. Inibidores de proteases 5. Reagentes para ligação
cruzada 6. Resistência à tração I. Título

Mariana Citta

Estabilidade mecânica e atividade proteolítica de interfaces produzidas com a técnica de adesão seca à dentina biomodificada

Comissão julgadora

**Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em
Reabilitação Oral**

Presidente e orientador(a): Profa. Dra. Josimeri Hebling

2º Examinador(a): Profa. Dra. Ana Flávia Sanches Borges

3º Examinador(a): Profa. Dra. Fernanda Gonçalves Basso

Araraquara, 01 de Março de 2019.

DADOS CURRICULARES

Mariana Citta

NASCIMENTO:	15 de Julho de 1993, Ribeirão Preto/SP
FILIAÇÃO:	Pai: José Carlos Citta Mãe: Angela Baliardo Citta
2012/2016	Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP
2017/2019	Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, área de concentração em Prótese, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

Dedico este trabalho primeiramente à **Deus**, pois sem Ele me abençoando, fortalecendo e protegendo a cada dia, eu não teria chegado até aqui.

Dedico também aos meus pais **José Carlos e Angela**, ao meu noivo **Mauricio**, ao meu irmão **Júnior** e às minhas sobrinhas **Maria Luiza e Malu**, pois o apoio e o carinho de vocês foram fundamentais.

À minha irmã **Fabiane** (in memoriam) pelo exemplo que foi em vida. Por todo carinho que sempre me transmitiu, por ter sido a pessoa mais feliz e empolgada quando entrei na faculdade de odontologia, e principalmente, por ter nos deixado duas pedras preciosas chamadas Maria Luiza e Malu.

Por fim, dedico a todos meus **familiares e amigos** que me ajudaram e torceram por mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à **Deus**, por Ele, com Sua infinita bondade e misericórdia, sempre guiar e proteger minha vida e minha família. Agradeço porque nos momentos difíceis Ele mostrou a Tua presença e o Teu amor comigo. E agradeço também pelas bênçãos e conquistas.

À minha Mãe **Angela Baliardo Citta**, minha melhor amiga e companheira. Obrigada por todo amor e dedicação que você sempre teve comigo, por sempre tentar fazer o melhor para mim e por ter me educado da melhor maneira possível. Obrigada por sempre torcer e me apoiar nessa jornada durante a graduação e o mestrado, e por me incentivar a buscar meus objetivos. Quero que você saiba que sempre estarei ao seu lado, mesmo que as vezes longe fisicamente, mas perto com o coração. Obrigada por tudo. Te Amo Infinitamente!

Ao meu Pai **José Carlos Citta**, por todo amor e dedicação comigo. Obrigada por sempre me apoiar nas minhas escolhas e fazer de tudo para eu alcançar meus objetivos. Obrigada por sempre ser presente (lembro como se fosse hoje de você me trazendo para fazer a matrícula na faculdade), e por se alegrar com as minhas conquistas. Te amo!

Ao meu noivo e futuro marido **Mauricio Andrés Tinajero Aroni**, por todo amor, carinho, paciência e dedicação comigo. Você chegou no início dessa caminhada e fez com que tudo fosse mais leve e feliz. Obrigada por ter estado ao meu lado todos os dias, até mesmo nos piores, e você estava ali com todo amor, paciência, atenção e cuidado. Obrigada por sempre me motivar a continuar para alcançar meus objetivos, pelos seus conselhos e companhia até nos feriados de experimento na faculdade. Obrigada por ser meu melhor amigo, por ser essa pessoa incrível e de um coração gigante. Te Amo Pra Sempre!

Ao meu irmão **José Carlos Citta Júnior**, por ter compartilhado comigo muitos momentos bons e ruins. Obrigada por sempre torcer por mim e me apoiar, e também por ter paciência comigo. Saiba que tenho muito orgulho de você. Te Amo!

Às minhas sobrinhas **Maria Luiza e Malu**, simplesmente por existirem na minha vida. Obrigada por cada sorriso e cada abraço no final de semana, quando eu chegava de uma semana cansativa. Obrigada pelo amor, carinho e também pelas brincadeiras. Amo vocês!

Aos meus **familiares**, amigas **Laís, Marcela, Marina, Mariely, Camila, Carla, Rafaela e Daniela**, e amigos **Guilherme e João Victor** que sempre torceram por mim e se alegraram com as minhas conquistas durante essa caminhada.

Gostaria de agradecer também à minha querida orientadora **Profª. Drª. Josimeri Hebling**. Obrigada por toda confiança, paciência, apoio e ensinamentos, contribuindo de forma excepcional para o meu crescimento profissional e pessoal. Obrigada pela oportunidade de poder trabalhar com a senhora, uma mulher admirável, e por compartilhar os seus conhecimentos comigo. Mais uma vez obrigada pela paciência que sempre teve comigo e pelos seus conselhos, acredito que sou uma pessoa mais confiante e a senhora fez parte disso. Muito obrigada!

À minha coorientadora **Drª. Giovana Anovazzi Medeiros**, que ao longo dessa jornada se tornou uma amiga. Obrigada por tudo que fez por mim nesses dois anos de mestrado. Obrigada por sempre se dispor a me ajudar, pela confiança, apoio, ensinamentos e paciência, muita paciência que teve comigo. Obrigada pelos conselhos e por sua amizade!

Ao **Prof. Dr. Carlos Alberto de Souza Costa**, por ser um exemplo de professor, pesquisador e pessoa, e pelos ensinamentos e conselhos durante as apresentações nas reuniões. Obrigada também por ter aberto as portas do seu laboratório e ter permitido que eu fizesse parte da sua equipe ainda durante minha graduação.

À **Profª. Drª. Fernanda Gonçalves Basso Lombardi**, por todo apoio que me deu durante esses anos. Obrigada por me ajudar sempre que precisei, pelo auxílio na pesquisa, pelas sugestões e correções feitas durante minha pré-qualificação e qualificação e por ter aceitado compor minha banca de defesa. Obrigada pelos seus conselhos e amizade Fer.

À **Drª. Débora Lopes Salles Scheffel**, por ter me auxiliado no início do mestrado, demonstrando os protocolos para os experimentos, tirando minhas dúvidas e compartilhando seu conhecimento para a minha pesquisa. Obrigada!

Aos **Prof. Dr. José Maurício dos Santos Nunes Reis** e **Profª. Drª. Ligia Antunes Pereira Pinelli**, professores do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, pela orientação e ensinamentos durante meu estágio docência nas disciplinas de Prótese Fixa I e II.

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, com seu atual reitor **Prof. Dr. Sandro Roberto Valentini** e vice-reitor **Prof. Dr. Sérgio Roberto Nobre**. Agradeço por fazer parte dessa grande universidade, que me proporcionou grande crescimento pessoal e profissional durante minha vida acadêmica na graduação e pós-graduação.

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara**, minha amada **FOAr** onde vivi os melhores últimos 7 anos, com sua atual e querida diretora **Profª. Drª. Elaine Maria Sgavioli Massucato** e seu querido vice-diretor **Prof. Dr. Edson Alves de Campos**, pelo acolhimento, atenção e cuidado para com os alunos desta Instituição. Tive a honra de fazer minha graduação nesta casa e de poder realizar o curso de Mestrado em Reabilitação Oral.

Ao **Programa de Pós-graduação em Reabilitação Oral**, representado pela atual coordenadora **Profª. Drª. Ana Claudia Pavarina** e vice-coordenadora **Profª. Drª. Daniela Aparecida de Godoi Gonçalves**. Agradeço a todos os professores que me ajudaram a crescer como profissional e como pessoa através dos conhecimentos compartilhados durante as disciplinas ministradas e estágios docência no curso de mestrado.

Ao **Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese**, com seu atual chefe de departamento **Prof. Dr. João Neudenir Arioli Filho** e seu vice-chefe **Prof. Dr. Francisco de Assis Mollo Junior**. Obrigada a todos por compartilharem seus conhecimentos e pela cordialidade no dia a dia.

Ao **Departamento de Clínica Infantil**, com sua atual chefe de departamento **Profª. Drª. Josimeri Hebling Costa** e seu vice-chefe **Prof. Dr. Luiz Gonzaga Gandini Junior**. Obrigada a todos por compartilharem seus conhecimentos e pela cordialidade no dia a dia.

Ao **Departamento de Fisiologia e Patologia**, com seu atual chefe de departamento **Prof. Dr. Carlos Alberto de Souza Costa** e seu vice-chefe **Prof. Dr. Eduardo Colombari**. Obrigada a todos por compartilharem seus conhecimentos e pela cordialidade no dia a dia.

Ao **Laboratório de Pesquisas e Análises de Biomateriais**, no Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, sob a coordenação da **Profª. Drª. Josimeri Hebling**, pelo apoio e infraestrutura para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao **Laboratório de Patologia Experimental e Biomateriais**, no Departamento de Fisiologia e Patologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, sob a coordenação do **Prof. Dr. Carlos Alberto de Souza Costa**, pelo apoio e infraestrutura em momentos necessários para o desenvolvimento da pesquisa.

À **CAPES**:

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À

FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2017/03927-9) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

Aos **amigos** do Laboratório de Pesquisas e Análises de Biomateriais e do Laboratório de Patologia Experimental e Biomateriais, pelo bom convívio, apoio e ajuda no dia a dia, e pelos momentos de descontração vividos.

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação **José Alexandre e Cristiano**, por serem sempre simpáticos, pacientes e prestativos.

A **todos os funcionários e colaboradores** da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, pelo bom convívio e dedicação com a qual desenvolvem seus trabalhos.

Agradeço a todas as pessoas que direta ou indiretamente participaram da minha história, colaboraram para o meu crescimento ou simplesmente torceram e vibraram com cada conquista.

Muito obrigada!

“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem
sucedidos.”

Provérbios 13:3.

Citta M. Estabilidade mecânica e atividade proteolítica de interfaces produzidas com a técnica de adesão seca à dentina biomodificada [dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2019.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a estabilidade mecânica e a atividade proteolítica de interfaces produzidas pela aplicação de um adesivo convencional simplificado sobre a dentina biomodificada e seca. **Métodos:** Superfícies planas de dentina coronária foram criadas em 64 molares hígidos. Os dentes foram divididos em 4 grupos de acordo com a solução aplicada sobre a dentina condicionada: extrato de semente de uva 5% (GSE), glutaraldeído 5% (GD), Gluma Desensitizer ou água (controle). As soluções foram aplicadas por 60s seguido de lavagem e secagem com papel absorvente. Os dentes foram então subdivididos em dois grupos, nos quais a dentina condicionada foi mantida úmida ou foi seca com ar por 60s. O adesivo Optibond foi aplicado e em seguida foi construído um cilindro de resina. Decorridas 24h, os dentes foram cortados em espécimes ($0,81\text{ mm}^2$), submetidos ao ensaio de microtração imediatamente ou após 12 meses de envelhecimento. Os mesmos procedimentos adesivos foram realizados em 32 dentes adicionais. Esses dentes foram seccionados em fatias de 0,5 mm de espessura, preparadas para os ensaios de nanoinfiltração e zimografia in situ (EnzChek). Os dados de resistência de união foram submetidos aos testes de ANOVA e Tukey ($p < 0,05$), e os ensaios de nanoinfiltração e zimografia in situ foram apresentados descritivamente. **Resultados:** Redução significativa da resistência de união imediata (ca. 65%) e aumento da atividade proteolítica e nanoinfiltração foi observado em interfaces produzidas sobre a dentina seca, sem previa biomodificação. Diferentemente, os valores de resistência de união não diferiram dos obtidos para a dentina úmida quando o colágeno foi biomodificado antes da secagem com ar. Interfaces produzidas sobre a dentina úmida e seca foram estáveis após 12 meses apenas quando a dentina foi biomodificada por GSE, GD ou Gluma. **Conclusão:** Interfaces produzidas pela aplicação de um adesivo convencional simplificado sobre a dentina biomodificada e seca foram mecanicamente estáveis e apresentaram reduzida atividade proteolítica após um ano de envelhecimento.

Palavras-chave: Adesivos dentinários. Envelhecimento. Dentina. Inibidores de proteases. Reagentes para ligação cruzada. Resistência a tração.

Citta M. Mechanical stability and proteolytic activity of resin-dentin bonds produced by the cross-linked dry bonding technique [dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2019.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the mechanical stability and the proteolytic activity of bonds created by a one-step, etch-and-rinse adhesive applied to cross-linked and air-dried etched dentin. **Methods:** Flat coronal dentin surfaces were produced in 64 sound molars. The teeth were divided into 4 groups according to the solution applied on the etched dentin: 5% grape seed extract, 5% glutaraldehyde, Gluma Desensitizer or deionized water (control). Solutions were applied for 60s followed by rinse and blot drying. Then, the teeth were separated into two subgroups: the etched dentin was kept moist or air dried for 60s. Optibond was applied followed by a composite resin buildup. After 24h, the teeth were cut into beams (0.81 mm²) which were microtensile tested immediately or after 12mo of storage. Additional teeth (n=32) were bonded as described and cut into 0.5 mm-thick slabs. The slabs were prepared for nanoleakage and in situ zymography analyses (EnzChek). Bond strength data were submitted to ANOVA and Tukey tests (p<0.05) while nanoleakage and zymography data were descriptively reported. **Results:** Significant reduction in bond strength (ca. 65%) and increase of the proteolytic activity was seen when the etched dentin was air-dried without previous biomodification. Conversely, bond strengths did not differ from those produced on wet dentin when collagen was cross-linked before air-drying, irrespective of the solution. For both moist and air-dried etched dentin, collagen cross-linking resulted in mechanically stable bonds and reduced proteolytic activity. **Conclusion:** Bonds produced by the application of a one-step, etch-and-rinse adhesive to cross-linked, air-dried etched dentin became mechanically stable and revealed reduced proteolytic activity after one year of aging.

Keywords: Dentin bonding agents. Aging. Dentin. Protease inhibitors. Cross-linking agents. Bond strength.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 PROPOSIÇÃO.....	17
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
3.1 Visão Geral da Composição da Dentina.....	18
3.2 Estrutura Básica do Colágeno Tipo I.....	19
3.3 Atividade Proteolítica da Dentina.....	20
3.4 Formação da Camada Híbrida.....	21
3.5 Mecanismos de Degradação da Camada Híbrida.....	22
3.6 Estratégias para Melhorar a Estabilidade da Camada Híbrida.....	24
3.7 Biomodificação da Matriz Dentinária por Agentes Promotores de Ligações Cruzadas (<i>cross-linkers</i>).....	25
4 MATERIAL E MÉTODO.....	29
4.1 Aspectos Éticos.....	29
4.2 Delineamento Experimental para o Ensaio Mecânico de Microtração.....	29
4.3 Obtenção da Superfície de Dentina.....	30
4.4 Tratamento da Dentina Prévio a Aplicação do Sistema Adesivo.....	31
4.5 Aplicação do Sistema Adesivo.....	32
4.6 Obtenção dos Espécimes para o Ensaio Mecânico de Microtração.....	33
4.7 Armazenamento dos Espécimes (Envelhecimento).....	34
4.8 Ensaio Mecânico de Microtração.....	34
4.9 Análise de Fraturas.....	35
4.10 Delineamento Experimental para Ensaios de Nanoinfiltração e Zimografia in situ.....	35
4.11 Protocolo de Nanoinfiltração e Avaliação em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	36
4.12 Zimografia in situ.....	37
4.13 Análise Estatística.....	38

5 RESULTADO.....	39
5.1 Resistência de União.....	39
5.2 Distribuição dos Tipos de Fraturas.....	40
5.3 Nanoinfiltração.....	41
5.4 Atividade Proteolítica.....	45
6 DISCUSSÃO.....	48
7 CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	55
ANEXO A.....	67

1 INTRODUÇÃO

A camada híbrida exerce função importante na retenção do material restaurador e no selamento da dentina. A camada híbrida ideal é caracterizada como uma estrutura tridimensional, composta pela mescla de polímero e colágeno, impermeável e capaz de garantir uma ligação contínua e estável entre a dentina e o material adesivo ¹. Entretanto, esse biocomposto contém imperfeições desde o momento de seu estabelecimento, como áreas sem infiltração monomérica ou pobremente infiltradas, áreas de predomínio hidrófilo ², retenção de água e solvente e a presença de fibrilas de colágeno desnudas ³ e, como consequência, tem sido considerado o elo frágil da união resina-dentina ¹. A infiltração incompleta da rede de colágeno desmineralizado por monômeros adesivos ³⁻⁸ é devido, entre outras razões, ao reduzido espaço disponível entre as moléculas de colágeno que compõem as fibrilas ⁹. Essa falta de espaço se deve à dois fatores principais: a presença de moléculas de água livres e também ligadas ao colágeno desmineralizado e ao empacotamento denso do colágeno ¹⁰⁻¹². Assim, devido a sua natureza imperfeita, a camada híbrida é susceptível a degradação, independente do sistema adesivo utilizado, convencional ou autocondicionante ^{10, 13-15}. Os processos de degradação da camada híbrida envolvem a clivagem do colágeno exposto por proteases dentinárias ^{10, 12, 14} e a hidrólise da porção resinosa por esterases, principalmente as produzidas por bactérias ¹⁶.

Após a desmineralização da dentina, a água é importante para a manutenção dos espaços interfibrilares que servirão de via para a infiltração dos monômeros do adesivo ¹⁷. Porém, a água limita a infiltração de monômeros hidrófobos, compromete a conversão monomérica ^{18, 19} e permite a hidrólise do colágeno mediada por enzimas proteolíticas como as metaloproteinases da matriz (MMPs) e as cisteínas catepsinas ^{10, 12}. Revisões que abordam a instabilidade da união resina-dentina têm demonstrado que a degradação do colágeno exposto na camada híbrida é um dos principais responsáveis pela falha de interfaces produzidas sobre a dentina ^{20, 21}. Entretanto, a remoção do conteúdo de água da dentina condicionada por simples evaporação, além de ser impraticável ¹¹, resulta no colapso das fibrilas de colágeno e fechamento das vias de infiltração do adesivo ^{17, 22-24}.

Visando aumentar as propriedades mecânicas do colágeno e torná-lo mais resistente à degradação, tem sido proposto o pré-tratamento da dentina condicionada com agentes promotores de ligações cruzadas (cross-linkers) ²⁵⁻²⁸,

como a carbodiimida (EDC), o glutaraldeído e as proantocianidinas (PAs). Esses agentes melhoram as propriedades mecânicas do colágeno, efeito esse evidenciado pelo aumento da resistência máxima à tração e módulo de elasticidade ²⁸⁻³¹. Adicionalmente, esses agentes são potentes inibidores de MMPs e cisteínas catepsinas ³²⁻³⁴. O mecanismo básico por meio do qual esses agentes são capazes de melhorar as propriedades mecânicas do colágeno é a promoção de ligações cruzadas secundárias ou induzidas entre as cadeias polipeptídicas que formam a molécula de colágeno (intramoleculares), entre moléculas de colágeno (intermoleculares) e entre fibrilas vizinhas (interfibrilares) ^{35, 36}.

Recentemente, Zhou et al.²² (2016) demonstraram ser possível desidratar a dentina condicionada sem consequências negativas à resistência de união imediata, desde que essa dentina tenha sido previamente biomodificada com um extrato rico em proantocianidinas (GSE). Sem a biomodificação do colágeno, a resistência de união imediata foi significativamente reduzida quando da secagem prolongada da dentina, ratificando que, sem reforçar as moléculas e fibrilas de colágeno, a técnica úmida de adesão ainda é necessária para a manutenção dos espaços interfibrilares. Essa nova técnica adesiva foi denominada de adesão à dentina biomodificada e seca (*cross-linked dry bonding*). Entretanto, os autores avaliaram apenas o efeito imediato da técnica. É importante a sua validação a longo prazo, uma vez que o grande desafio da adesão a dentina é a produção de camadas híbridas estáveis e, portanto, resistentes ou menos susceptíveis aos mecanismos de degradação hidrolítica e enzimática.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e dentro das limitações desse estudo, foi possível concluir que:

- A resistência de união foi negativamente influenciada pela secagem da dentina condicionada com ar. Entretanto, a prévia biomodificação com GSE, GD ou Gluma Desensitizer foi capaz de contrapor esse efeito prejudicial e as novas interfaces apresentaram resistência mecânica comparável a da dentina úmida, com ou sem biomodificação. Ainda, desde que biomodificada previamente, a secagem da dentina produziu interfaces estáveis mecanicamente após 12 meses de envelhecimento;
- Nanoinfiltração foi observada em todos os espécimes; entretanto, no período de 24 horas, foi mais evidente nas interfaces produzidas sobre a dentina não biomodificada e seca. A biomodificação da dentina com GSE, GD ou Gluma Desensitizer reduziu a infiltração de íons prata, independentemente da condição de hidratação da dentina;
- A biomodificação da dentina com GSE, GD ou Gluma desensitizer reduziu a atividade proteolítica de interfaces produzidas sobre a dentina úmida e seca. Essa redução foi evidenciada até o período de 12 meses.

REFERÊNCIAS*

1. 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; 38(6): 1989-2003.
2. Tay FR, Gwinnett JA, Wei SH. Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free acetone-based, single-bottle primer/adhesives. *Dent Mater.* 1996; 12(4): 236-44.
3. Ricci HA, Scheffel DL, Mariusso MR, Spolidorio DM, de Souza Costa CA, Hebling J. Exposed collagen in resin bonds to caries-affected dentin after dentin treatment with aqueous and alcoholic chlorhexidine solutions. *J Adhes Dent.* 2014; 16(1): 21-8.
4. Nakabayashi N, Watanabe A, Arao T. A tensile test to facilitate identification of defects in dentine bonded specimens. *J Dent.* 1998; 26(4): 379-85.
5. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res.* 2003; 82(2): 141-5.
6. Oliveira SS, Marshall SJ, Habelitz S, Gansky SA, Wilson RS, Marshall GW, Jr. The effect of a self-etching primer on the continuous demineralization of dentin. *Eur J Oral Sci.* 2004; 112(4): 376-83.
7. Spencer P, Wang Y, Katz JL. Identification of collagen encapsulation at the dentin/adhesive interface. *J Adhes Dent.* 2004; 6(2): 91-5.
8. Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent Mater.* 2000; 16(6): 406-11.
9. Bertassoni LE, Orgel JP, Antipova O, Swain MV. The dentin organic matrix - limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. *Acta Biomater.* 2012; 8(7): 2419-33.
10. Tjaderhane L. Dentin bonding: can we make it last? *Oper Dent.* 2015; 40(1): 4-18.
11. Agee KA, Prakki A, Abu-Haimed T, Naguib GH, Nawareg MA, Tezvergil-Mutluay A, et al. Water distribution in dentin matrices: bound vs. unbound water. *Dent Mater.* 2015; 31(3): 205-16.
12. Pashley DH, Tay FR, Imazato S. How to increase the durability of resin-dentin bonds. *Compend Contin Educ Dent.* 2011; 32(7): 60-4, 66.
13. Anchietà RB, Machado LS, Sundfeld RH, Reis AF, Giannini M, Luersen MA, et al. Effect of partially demineralized dentin beneath the hybrid layer on dentin-adhesive interface micromechanics. *J Biomech.* 2015; 48(4): 701-7.

*De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca:

<http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

14. Breschi L, Maravic T, Cunha SR, Comba A, Cadenaro M, Tjaderhane L, et al. Dentin bonding systems: from dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dent Mater*. 2018; 34(1): 78-96.
15. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjaderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*. 2011; 27(1): 1-16.
16. Huang B, Siqueira WL, Cvitkovitch DG, Finer Y. Esterase from a cariogenic bacterium hydrolyzes dental resins. *Acta Biomater*. 2018; 71: 330-8.
17. 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; 20(1): 7-20.
18. Jacobsen T, Soderholm KJ. Some effects of water on dentin bonding. *Dent Mater*. 1995; 11(2): 132-6.
19. Abedin F, Ye Q, Parthasarathy R, Misra A, Spencer P. Polymerization behavior of hydrophilic-rich phase of dentin adhesive. *J Dent Res*. 2015; 94(3): 500-7.
20. 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; 32(2): e41-53.
21. Tjaderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldini S, et al. Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer-A review. *Dent Mater*. 2013; 29(10): 999-1011.
22. Zhou J, Chiba A, Scheffel DL, Hebling J, Agee K, Tagami J, et al. Cross-linked dry bonding: a new etch-and-rinse technique. *Dent Mater*. 2016; 32(9): 1124-32.
23. Manso AP, Marquezini L Jr., Silva SM, Pashley DH, Tay FR, Carvalho RM. Stability of wet versus dry bonding with different solvent-based adhesives. *Dent Mater*. 2008; 24(4): 476-82.
24. Takai T, Hosaka K, Kambara K, Thitthaweerat S, Matsui N, Takahashi M, et al. Effect of air-drying dentin surfaces on dentin bond strength of a solvent-free one-step adhesive. *Dent Mater J*. 2012; 31(4): 558-63.
25. Bedran-Russo AK, Vidal CM, Dos Santos PH, Castellan CS. Long-term effect of carbodiimide on dentin matrix and resin-dentin bonds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010; 94(1): 250-5.
26. Scheffel DL, Soares DG, Basso FG, de Souza Costa CA, Pashley D, Hebling J. Transdental cytotoxicity of glutaraldehyde on odontoblast-like cells. *J Dent*. 2015; 43(8): 997-1006.

27. Lee J, Sabatini C. Glutaraldehyde collagen cross-linking stabilizes resin-dentin interfaces and reduces bond degradation. *Eur J Oral Sci.* 2017; 125(1): 63-71.
28. Scheffel DL, Hebling J, Scheffel RH, Agee KA, Cadenaro M, Turco G, et al. Stabilization of dentin matrix after cross-linking treatments, in vitro. *Dent Mater.* 2014; 30(2): 227-33.
29. Bedran-Russo AK, Pashley DH, Agee K, Drummond JL, Miescke KJ. Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008; 86(2): 330-4.
30. Aydin B, Leme-Kraus AA, Vidal CMP, Aguiar TR, Phansalkar RS, Nam JW, et al. Evidence to the role of interflavan linkages and galloylation of proanthocyanidins at sustaining long-term dentin biomodification. *Dent Mater.* 2019; 35(2): 328-34.
31. Ryou H, Turco G, Breschi L, Tay FR, Pashley DH, Arola D. On the stiffness of demineralized dentin matrices. *Dent Mater.* 2016; 32(2): 161-70.
32. Epasinghe DJ, Yiu CK, Burrow MF, Hiraishi N, Tay FR. The inhibitory effect of proanthocyanidin on soluble and collagen-bound proteases. *J Dent.* 2013; 41(9): 832-9.
33. Seseogullari-Dirihan R, Apollonio F, Mazzoni A, Tjaderhane L, Pashley D, Breschi L, et al. Use of crosslinkers to inactivate dentin MMPs. *Dent Mater.* 2016; 32(3): 423-32.
34. Scheffel DL, Hebling J, Scheffel RH, Agee K, Turco G, de Souza Costa CA, et al. Inactivation of matrix-bound matrix metalloproteinases by cross-linking agents in acid-etched dentin. *Oper Dent.* 2014; 39(2): 152-8.
35. Bedran-Russo AK, Pauli GF, Chen SN, McAlpine J, Castellan CS, Phansalkar RS, et al. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. *Dent Mater.* 2014; 30(1): 62-76.
36. Sabatini C, Scheffel DLS, Agee KA, Pashley DH. Inhibition of MMP activity in acid-etched dentin by Gluma treatment. *Compend Contin Educ Dent.* 2013: 34-46.
37. Embery G, Hall R, Waddington R, Septier D, Goldberg M. Proteoglycans in dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2001; 12(4): 331-49.
38. Tjäderhane L, Carrilho MR, Breschi L, Tay FR, Pashley DH. Dentin basic structure and composition—an overview. *Endod Topics.* 2012; 20(1): 3-29.
39. Marshall GW, Jr., Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent.* 1997; 25(6): 441-58.

40. 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 Topics*. 2009; 21(1): 19-40.
41. Orsini G, Ruggeri Jr A, 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 Topics*. 2009; 21(1): 1-18.
42. Bertassoni LE. Dentin on the nanoscale: Hierarchical organization, mechanical behavior and bioinspired engineering. *Dent Mater*. 2017; 33(6): 637-49.
43. Tjaderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldelli S, et al. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater*. 2013; 29(1): 116-35.
44. Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011; 3: 711-35.
45. Landis WJ. A study of calcification in the leg tendons from the domestic turkey. *J Ultrastruct Mol Struct Res*. 1986; 94(3): 217-38.
46. Kinney JH, Pople JA, Marshall GW, Marshall SJ. Collagen orientation and crystallite size in human dentin: a small angle X-ray scattering study. *Calcif Tissue Int*. 2001; 69(1): 31-7.
47. Kinney JH, Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW. The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. *J Dent Res*. 2003; 82(12): 957-61.
48. Balooch M, Habelitz S, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW. Mechanical properties of mineralized collagen fibrils as influenced by demineralization. *J Struct Biol*. 2008; 162(3): 404-10.
49. Li B, Zhu X, Ma L, Wang F, Liu X, Yang X, et al. Selective demineralisation of dentine extrafibrillar minerals-A potential method to eliminate water-wet bonding in the etch-and-rinse technique. *J Dent*. 2016; 52: 55-62.
50. 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(2): 136-40.
51. Chapman JA, Tzaphlidou M, Meek KM, Kadler KE. The collagen fibril--a model system for studying the staining and fixation of a protein. *Electron Microsc Rev*. 1990; 3(1): 143-82.
52. 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; 311(1): 131-47.

53. Rainey JK, Goh MC. A statistically derived parameterization for the collagen triple-helix. *Protein Sci.* 2002; 11(11): 2748-54.
54. Panwar P, Du X, Sharma V, Lamour G, Castro M, Li H, et al. Effects of cysteine proteases on the structural and mechanical properties of collagen fibers. *J Biol Chem.* 2013; 288(8): 5940-50.
55. Yamauchi M, Shiiba M. Lysine hydroxylation and cross-linking of collagen. *Methods Mol Biol.* 2008; 446: 95-108.
56. Brodsky B, Ramshaw JA. The collagen triple-helix structure. *Matrix Biol.* 1997; 15(8-9): 545-54.
57. Sabbagh J, Vreven J, Leloup G. Dynamic and static moduli of elasticity of resin-based materials. *Dent Mater.* 2002; 18(1): 64-71.
58. Dayan D, Binderman I, Mechanic GL. A preliminary study of activation of collagenase in carious human dentine matrix. *Arch Oral Biol.* 1983; 28(2): 185-7.
59. Stape THS, Tjaderhane L, Abuna G, Sinhoreti MAC, Martins LRM, Tezvergil-Mutluay A. Optimization of the etch-and-rinse technique: New perspectives to improve resin-dentin bonding and hybrid layer integrity by reducing residual water using dimethyl sulfoxide pretreatments. *Dent Mater.* 2018; 34(7): 967-77.
60. Brinckerhoff CE, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002; 3(3): 207-14.
61. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003; 92(8): 827-39.
62. Tjaderhane 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; 77(8): 1622-9.
63. Nemeth JA, Yousif R, Herzog M, Che M, Upadhyay J, Shekarriz B, et al. Matrix metalloproteinase activity, bone matrix turnover, and tumor cell proliferation in prostate cancer bone metastasis. *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94(1): 17-25.
64. Orsini G, Legitimo A, Failli A, Massei F, Biver P, Consolini R. Enumeration of human peripheral blood dendritic cells throughout the life. *Int Immunol.* 2012; 24(6): 347-56.
65. Boskey AL. The role of extracellular matrix components in dentin mineralization. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1991; 2(3): 369-87.
66. Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjaderhane L. The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, enamelysin) in mature human teeth. *J Dent Res.* 2002; 81(9): 603-7.

67. Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GA, Papa S, Mazzotti G, et al. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res*. 2007; 86(5): 436-40.
68. Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjaderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Arch Oral Biol*. 2007; 52(2): 121-7.
69. Mazzoni A, Papa V, Nato F, Carrilho M, Tjaderhane L, Ruggeri A Jr., et al. Immunohistochemical and biochemical assay of MMP-3 in human dentine. *J Dent*. 2011; 39(3): 231-7.
70. Tjaderhane 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.
71. Fanchon S, Bourd K, Septier D, Everts V, Beertsen W, Menashi S, et al. Involvement of matrix metalloproteinases in the onset of dentin mineralization. *Eur J Oral Sci*. 2004; 112(2): 171-6.
72. 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; 83(3): 216-21.
73. Perumal S, Antipova O, Orgel JP. Collagen fibril architecture, domain organization, and triple-helical conformation govern its proteolysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105(8): 2824-9.
74. Kafienah W, Bromme D, Buttle DJ, Croucher LJ, Hollander AP. Human cathepsin K cleaves native type I and II collagens at the N-terminal end of the triple helix. *Biochem J*. 1998; 331 (Pt 3): 727-32.
75. Scaffa PM, Breschi L, Mazzoni A, Vidal CM, Curci R, Apolonio F, et al. Co-distribution of cysteine cathepsins and matrix metalloproteases in human dentin. *Arch Oral Biol*. 2017; 74: 101-7.
76. Tersariol IL, Geraldeli S, Minciotti CL, Nascimento FD, Paakkonen V, Martins MT, et al. Cysteine cathepsins in human dentin-pulp complex. *J Endod*. 2010; 36(3): 475-81.
77. Orsini G, Ruggeri A, Jr., Mazzoni A, Papa V, Piccirilli M, Falconi M, et al. Immunohistochemical identification of type I and type III collagen and chondroitin sulphate in human pre-dentine: a correlative FEI-SEM/TEM study. *Int Endod J*. 2007; 40(9): 669-78.
78. Turk B, Bieth JG, Bjork I, Dolenc I, Turk D, Cimerman N, et al. Regulation of the activity of lysosomal cysteine proteinases by pH-induced inactivation and/or endogenous protein inhibitors, cystatins. *Biol Chem Hoppe Seyler*. 1995; 376(4): 225-30.

79. Aguda AH, Panwar P, Du X, Nguyen NT, Brayer GD, Bromme D. Structural basis of collagen fiber degradation by cathepsin K. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014; 111(49): 17474-9.
80. Stape THS, Tjaderhane L, Tezvergil-Mutluay A, Da Silva WG, Dos Santos Silva AR, da Silva WJ, et al. In situ analysis of gelatinolytic activity in human dentin. *Acta Histochem*. 2018; 120(2): 136-41.
81. Mazzoni A, Nascimento FD, Carrilho M, Tersariol I, Papa V, Tjaderhane L, et al. MMP activity in the hybrid layer detected with in situ zymography. *J Dent Res*. 2012; 91(5): 467-72.
82. Mazzoni A, Angeloni V, Apolonio FM, Scotti N, Tjaderhane L, Tezvergil-Mutluay A, et al. Effect of carbodiimide (EDC) on the bond stability of etch-and-rinse adhesive systems. *Dent Mater*. 2013; 29(10): 1040-7.
83. Mazzoni A, Angeloni V, Sartori N, Duarte S, Jr., Maravic T, Tjaderhane L, et al. Substantivity of carbodiimide inhibition on dentinal enzyme activity over time. *J Dent Res*. 2017; 96(8): 902-8.
84. Alonso JRL, Basso FG, Scheffel DLS, de-Souza-Costa CA, Hebling J. Effect of crosslinkers on bond strength stability of fiber posts to root canal dentin and in situ proteolytic activity. *J Prosthet Dent*. 2018; 119(3): 494 e1- e9.
85. Scheffel DL, Delgado CC, Soares DG, Basso FG, de Souza Costa CA, Pashley DH, et al. Increased durability of resin-dentin bonds following cross-linking treatment. *Oper Dent*. 2015; 40(5): 533-9.
86. Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res*. 2002; 62(3): 447-56.
87. Brackett MG, Li N, Brackett WW, Sword RJ, Qi YP, Niu LN, et al. The critical barrier to progress in dentine bonding with the etch-and-rinse technique. *J Dent*. 2011; 39(3): 238-48.
88. Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjaderhane L, et al. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater*. 2010; 26(6): 571-8.
89. Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater*. 2012; 28(1): 72-86.
90. Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res*. 2005; 84(8): 741-6.
91. Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res*. 2007; 86(1): 90-4.

92. 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; 84(2): 118-32.
93. Marchesi G, Frassetto A, Visintini E, Diolosa M, Turco G, Salgarello S, et al. Influence of ageing on self-etch adhesives: one-step vs. two-step systems. *Eur J Oral Sci*. 2013; 121(1): 43-9.
94. Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin adhesion and MMPs: a comprehensive review. *J Esthet Restor Dent*. 2013; 25(4): 219-41.
95. Hass V, Luque-Martinez IV, Gutierrez MF, Moreira CG, Gotti VB, Feitosa VP, et al. Collagen cross-linkers on dentin bonding: Stability of the adhesive interfaces, degree of conversion of the adhesive, cytotoxicity and in situ MMP inhibition. *Dent Mater*. 2016; 32(6): 732-41.
96. 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; 24(1): 90-101.
97. Shokati B, Tam LE, Santerre JP, Finer Y. Effect of salivary esterase on the integrity and fracture toughness of the dentin-resin interface. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010; 94(1): 230-7.
98. Finer Y, Santerre JP. Salivary esterase activity and its association with the biodegradation of dental composites. *J Dent Res*. 2004; 83(1): 22-6.
99. Carrilho MR, Tay FR, Donnelly AM, Agee KA, Tjaderhane L, Mazzoni A, et al. Host-derived loss of dentin matrix stiffness associated with solubilization of collagen. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009; 90(1): 373-80.
100. Nagase H, Fushimi K. Elucidating the function of non catalytic domains of collagenases and aggrecanases. *Connect Tissue Res*. 2008; 49(3): 169-74.
101. Amar S, Smith L, Fields GB. Matrix metalloproteinase collagenolysis in health and disease. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2017; 1864(11 Pt A): 1940-51.
102. Armstrong SR, Jessop JL, Winn E, Tay FR, Pashley DH. Denaturation temperatures of dentin matrices. I. Effect of demineralization and dehydration. *J Endod*. 2006; 32(7): 638-41.
103. Ricci HA, Sanabe ME, de Souza Costa CA, Pashley DH, Hebling J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci*. 2010; 118(4): 411-6.
104. 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(6): 1385-91.

105. Carrilho MR, Geraldini S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L, et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res.* 2007; 86(6): 529-33.
106. Tay FR, Pashley DH, Kapur RR, Carrilho MR, Hur YB, Garrett LV, et al. Bonding BisGMA to dentin--a proof of concept for hydrophobic dentin bonding. *J Dent Res.* 2007; 86(11): 1034-9.
107. Hosaka K, Nishitani Y, Tagami J, Yoshiyama M, Brackett WW, Agee KA, et al. Durability of resin-dentin bonds to water- vs. ethanol-saturated dentin. *J Dent Res.* 2009; 88(2): 146-51.
108. Stape TH, Tjaderhane L, Tezvergil-Mutluay A, Yanikian CR, Szesz AL, Loguercio AD, et al. Dentin bond optimization using the dimethyl sulfoxide-wet bonding strategy: A 2-year in vitro study. *Dent Mater.* 2016; 32(12): 1472-81.
109. Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Uchiyama T, Imazato S, Mutluay MM, Cadenaro M, et al. The inhibitory effects of quaternary ammonium methacrylates on soluble and matrix-bound MMPs. *J Dent Res.* 2011; 90(4): 535-40.
110. Tezvergil-Mutluay A, Mutluay MM, Agee KA, Seseogullari-Dirihan R, Hoshika T, Cadenaro M, et al. Carbodiimide cross-linking inactivates soluble and matrix-bound MMPs, in vitro. *J Dent Res.* 2012; 91(2): 192-6.
111. Liu Y, Chen M, Yao X, Xu C, Zhang Y, Wang Y. Enhancement in dentin collagen's biological stability after proanthocyanidins treatment in clinically relevant time periods. *Dent Mater.* 2013; 29(4): 485-92.
112. Niu LN, Zhang W, Pashley DH, Breschi L, Mao J, Chen JH, et al. Biomimetic remineralization of dentin. *Dent Mater.* 2014; 30(1): 77-96.
113. Tay FR, Pashley DH. Guided tissue remineralisation of partially demineralised human dentine. *Biomaterials.* 2008; 29(8): 1127-37.
114. Zhang SC, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *Int J Oral Sci.* 2009; 1(4): 163-76.
115. Aguiar TR, Vidal CM, Phansalkar RS, Todorova I, Napolitano JG, McAlpine JB, et al. Dentin biomodification potential depends on polyphenol source. *J Dent Res.* 2014; 93(4): 417-22.
116. Cai J, Palamara JEA, Burrow MF. Effects of collagen crosslinkers on dentine: a literature review. *Calcif Tissue Int.* 2018; 102(3): 265-79.
117. 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(4): 420-5.

118. 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(8): 771-8.
119. Liu RR, Fang M, Zhang L, Tang CF, Dou Q, Chen JH. Anti-proteolytic capacity and bonding durability of proanthocyanidin-biomodified demineralized dentin matrix. *Int J Oral Sci*. 2014; 6(3): 168-74.
120. Cheung DT, Perelman N, Ko EC, Nimni ME. Mechanism of crosslinking of proteins by glutaraldehyde III. Reaction with collagen in tissues. *Connect Tissue Res*. 1985; 13(2): 109-15.
121. Cheung DT, Tong D, Perelman N, Ertl D, Nimni ME. Mechanism of crosslinking of proteins by glutaraldehyde. IV: In vitro and in vivo stability of a crosslinked collagen matrix. *Connect Tissue Res*. 1990; 25(1): 27-34.
122. Han B, Jaurequi J, Tang BW, Nimni ME. Proanthocyanidin: a natural crosslinking reagent for stabilizing collagen matrices. *J Biomed Mater Res A*. 2003; 65(1): 118-24.
123. Xu C, Wang Y. Cross-linked demineralized dentin maintains its mechanical stability when challenged by bacterial collagenase. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2011; 96(2): 242-8.
124. Maciel KT, Carvalho RM, Ringle RD, Preston CD, Russell CM, Pashley DH. The effects of acetone, ethanol, HEMA, and air on the stiffness of human decalcified dentin matrix. *J Dent Res*. 1996; 75(11): 1851-8.
125. Al-Ammar A, Drummond JL, Bedran-Russo AK. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009; 91(1): 419-24.
126. Cilli R, Prakki A, de Araujo PA, Pereira JC. Influence of glutaraldehyde priming on bond strength of an experimental adhesive system applied to wet and dry dentine. *J Dent*. 2009; 37(3): 212-8.
127. Qin C, Xu J, Zhang Y. Spectroscopic investigation of the function of aqueous 2-hydroxyethylmethacrylate/glutaraldehyde solution as a dentin desensitizer. *Eur J Oral Sci*. 2006; 114(4): 354-9.
128. Bedran-Russo AK, Pereira PN, Duarte WR, Drummond JL, Yamauchi M. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007; 80(1): 268-72.
129. Bedran-Russo AK, Castellan CS, Shinohara MS, Hassan L, Antunes A. Characterization of biomodified dentin matrices for potential preventive and reparative therapies. *Acta Biomater*. 2011; 7(4): 1735-41.
130. Castellan CS, Pereira PN, Grande RH, Bedran-Russo AK. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. *Dent Mater*. 2010; 26(10): 968-73.

131. Deng M, Dong X, Zhou X, Wang L, Li H, Xu X. Characterization of dentin matrix biomodified by *Galla chinensis* extract. *J Endod*. 2013; 39(4): 542-7.
132. Phansalkar RS, Nam JW, Chen SN, McAlpine JB, Napolitano JG, Leme A, et al. A galloylated dimeric proanthocyanidin from grape seed exhibits dentin biomodification potential. *Fitoterapia*. 2015; 101: 169-78.
133. Vidal CM, Leme AA, Aguiar TR, Phansalkar R, Nam JW, Bisson J, et al. Mimicking the hierarchical functions of dentin collagen cross-links with plant derived phenols and phenolic acids. *Langmuir*. 2014; 30(49): 14887-93.
134. Xie Q, Bedran-Russo AK, Wu CD. In vitro remineralization effects of grape seed extract on artificial root caries. *J Dent*. 2008; 36(11): 900-6.
135. Ekambaram M, Yiu CK, Matinlinna JP. Effect of solvents on dentin collagen cross-linking potential of carbodiimide. *J Adhes Dent*. 2015; 17(3): 219-26.
136. Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res*. 2002; 81(7): 472-6.
137. Agee KL, Pashley EL, Itthagarun A, Sano H, Tay FR, Pashley DH. Submicron hiat in acid-etched dentin are artifacts of desiccation. *Dent Mater*. 2003; 19(1): 60-8.
138. Stamenkovic I. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol*. 2003; 200(4): 448-64.
139. Palosaari H, Pennington CJ, Larmas M, Edwards DR, Tjaderhane L, Salo T. Expression profile of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in mature human odontoblasts and pulp tissue. *Eur J Oral Sci*. 2003; 111(2): 117-27.
140. Pashley DH, Agee KA, Carvalho RM, Lee KW, Tay FR, Callison TE. Effects of water and water-free polar solvents on the tensile properties of demineralized dentin. *Dent Mater*. 2003; 19(5): 347-52.
141. Bembey AK, Oyen M, Bushby A, Boyde A. Nanoindentation measurements of bone viscoelasticity as a function of hydration state. *MRS Online Proceeding Library Archive*. 2011; 898: 0898-L07-04.
142. Ntim M, Bembey A, Ferguson V, Bushby A. Hydration effects on the viscoelastic properties of collagen. *MRS Online Proceeding Library Archive*. 2011; 898: 0898-L05-02.
143. Pashley DH, Agee KA, Nakajima M, Tay FR, Carvalho RM, Terada RS, et al. Solvent-induced dimensional changes in EDTA-demineralized dentin matrix. *J Biomed Mater Res*. 2001; 56(2): 273-81.
144. Fang M, Liu R, Xiao Y, Li F, Wang D, Hou R, et al. Biomodification to dentin by a natural crosslinker improved the resin-dentin bonds. *J Dent*. 2012; 40(6): 458-66.

145. Turco G, Cadenaro M, Maravic 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; 34(3): 452-9.