RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 01/09/2028.

UNESP - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho"
Faculdade de Odontologia de Araraquara

Ana Paula Aparecida Raimundo Alves

Desproteinização dentinária como estratégia de otimização da adesão em sistema adesivo universal

Araraquara

2026

UNESP - Universidade Estadual Paulista

"Júlio de Mesquita Filho"

Faculdade de Odontologia de Araraquara

Ana Paula Aparecida Raimundo Alves

Desproteinização dentinária como estratégia de otimização da adesão em sistema adesivo universal

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Doutora em Ciências Odontológicas, na área de Dentística Restauradora.

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Abi Rached Dantas

Araraquara

2026

A474d

Alves, Ana Paula Aparecida Raimundo
Desproteinização dentinária como estratégia de otimização da adesão em sistema adesivo universal / Ana Paula Aparecida Raimundo Alves. -- Araraquara, 2026
54 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientadora: Prof Dra Andréa Abi Rached Dantas

1. Adesivos dentinários. 2. Dentina. 3. Papaína. 4. Bromelina. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Este estudo poderá contribuir para o avanço do conhecimento sobre a interação entre agentes desproteinizantes enzimáticos de origem natural e a dentina, ampliando a compreensão de estratégias para otimização da camada híbrida em sistemas adesivos universais. A comparação entre papaína e bromelina pode fornecer informações relevantes sobre a penetrabilidade e a qualidade da interface adesiva, suprindo lacunas ainda existentes na literatura.

Do ponto de vista clínico, os resultados poderão contribuir para o desenvolvimento de protocolos mais seguros, biocompatíveis e de fácil aplicação, utilizando enzimas naturais como alternativa ao hipoclorito de sódio. Isso pode favorecer maior longevidade das restaurações adesivas e reduzir a necessidade de retratamentos, beneficiando pacientes atendidos tanto na rede pública quanto privada.

Além disso, a pesquisa poderá auxiliar na formação de alunos de graduação e pós-graduação, bem como na atualização de protocolos clínicos baseados em evidências científicas. Desenvolvido na Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP), o estudo também fortalece a produção científica nacional e contribui para a busca de alternativas com menor impacto biológico e ambiental na odontologia adesiva.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This study may contribute to advancing knowledge regarding the interaction between natural enzyme-based deproteinizing agents and dentin, broadening the understanding of strategies aimed at optimizing the hybrid layer in universal adhesive systems. The comparison between papain and bromelain may provide relevant information about the penetrability and quality of the adhesive interface, thereby filling gaps that still exist in the literature.

From a clinical perspective, the findings may contribute to the development of safer, more biocompatible, and user-friendly protocols by employing natural enzymes as an alternative to sodium hypochlorite. This approach may promote greater longevity of adhesive restorations and reduce the need for retreatment, benefiting patients treated in both public and private healthcare settings.

Furthermore, this research may support the education and training of undergraduate and graduate students, as well as the updating of clinical protocols based on scientific evidence. Developed at the Araraquara School of Dentistry, São Paulo State University (UNESP), the study also strengthens national scientific production and contributes to the search for alternatives with lower biological and environmental impacts in adhesive dentistry.

Ana Paula Aparecida Raimundo Alves

Desproteinização dentinária como estratégia de otimização da adesão em sistema adesivo universal

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de doutora em Ciências Odontológicas

Presidente e orientador: Profa. Dra. Andréa Abi Rached Dantas

2º Examinador: Prof. Dr. Milton Carlos Kuga

3º Examinador: Profa. Dra. Tatiane Miranda Manzoli

4º Examinador: Prof. Dr. Mariana Bena Gelio

5º Examinador: Prof. Dr. Marcelo Ferrarezi

Araraquara, 01 de setembro de 2026

DADOS CURRICULARES

Ana Paula Aparecida Raimundo Alves

NASCIMENTO: 13/10/1984 – Ribeirão Preto – São Paulo

FILIAÇÃO: Nivalnete Raimundo Alves e Aparecida Cleusa Amadeu Alves

2005-2008: **Graduação em Odontologia**
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil

2020-2022: Mestrado em Ciências Odontológicas – Área de Dentística Restauradora
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

2023-2026: Doutorado em Ciências Odontológicas – Área de Dentística Restauradora
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Dedico este trabalho a **Deus**, por guiar meus passos e sustentar minha caminhada; à **Nossa Senhora**, por sua proteção e intercessão; à minha **família**, por ser meu alicerce e meu porto seguro; e, de modo muito especial, à minha querida **avó Lourdes (*in memoriam*)**, cuja presença permanece viva em meu coração e em cada conquista da minha vida.

Este título também é seu, vó.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por conduzir meus passos mesmo quando eu já não enxergava o caminho, e a Nossa Senhora Aparecida, por sua constante intercessão, proteção e acolhimento nos momentos em que mais precisei.

Aos meus pais e às minhas irmãs, que sempre foram meu porto seguro. Obrigada pelo amor incondicional, pela compreensão diante das minhas ausências, pelo incentivo constante e por acreditarem em mim até quando eu mesma duvidei. Esta conquista também pertence a vocês.

Dedico este trabalho, com profunda saudade, à minha tia Fátima, à minha tia Rita, ao meu avô Joaquim e, especialmente, à minha avó Lourdes. Vocês sonharam comigo este sonho e tenho certeza de que estariam imensamente felizes por este momento. Minha avó Lourdes foi meu alicerce, meu refúgio e meu maior exemplo de força, carinho e generosidade. Sua presença continua viva em tudo o que sou, e levo comigo a certeza de que, de alguma forma, ela acompanha cada uma das minhas conquistas.

À minha orientadora professora Andréa, minha orientadora, minha sincera gratidão pela paciência, sensibilidade e confiança ao longo desta trajetória. O doutorado foi marcado por desafios pessoais, familiares e de saúde que tornaram o percurso muito mais difícil do que eu poderia imaginar. Sua compreensão e seu apoio foram fundamentais para que eu não desistisse.

Ao professor Kuga, pela coorientação e pelas contribuições acadêmicas que fizeram parte desta pesquisa.

Ao Vitório, meu profundo agradecimento por ter sido meu apoio emocional durante toda esta jornada. Nos momentos de maior dificuldade, sua presença, incentivo e palavras de força foram essenciais para que eu encontrasse coragem para seguir em frente.

Por fim, dedico esta tese a todos aqueles que acreditaram em mim, caminharam ao meu lado e compreenderam que, por trás deste título, existe uma história construída com fé, amor, renúncias, desafios e muita perseverança.

Que esta conquista honre cada pessoa que fez parte da minha caminhada.

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.

O que a vida quer da gente é coragem.
Guimarães Rosa*

* ROSA, João Guimarães. Grande sertão: veredas. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 2006.

Alves APAR. Desproteinização dentinária como estratégia de otimização da adesão em sistema adesivo universal [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2026.

RESUMO

A adesão à dentina permanece como um dos principais desafios da odontologia restauradora devido à complexidade estrutural desse substrato e à degradação da camada híbrida ao longo do tempo. Nesse contexto, a desproteinização dentinária tem sido proposta como estratégia para otimizar a interface adesiva por meio da remoção seletiva da matriz orgânica exposta. O presente estudo avaliou o efeito da desproteinização da dentina utilizando enzimas proteolíticas naturais, papaína a 10% e bromelina a 8%, em comparação ao hipoclorito de sódio a 5,25% e a um grupo controle, sobre a resistência de união ao microcisalhamento e a qualidade da interface adesiva de um sistema adesivo universal, aplicado na estratégia autocondicionante. Trata-se de um estudo laboratorial, experimental, in vitro, realizado em dentes incisivos bovinos distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais. Após os tratamentos de superfície, foi aplicado o mesmo sistema adesivo universal, na estratégia autocondicionante, marcado com Rodamina B, possibilitando a avaliação qualitativa da interface adesiva por microscopia confocal de varredura a laser. A resistência de união foi determinada pelo ensaio de microcisalhamento e os dados submetidos à análise estatística por ANOVA e teste de Tukey (α=5%). Os resultados demonstraram que todos os protocolos de desproteinização promoveram aumento significativo da resistência de união em relação ao grupo controle. A papaína apresentou os maiores valores médios de resistência de união, diferindo estatisticamente do hipoclorito de sódio, enquanto a bromelina apresentou desempenho intermediário, sem diferença significativa em relação aos demais agentes desproteinizantes. A análise qualitativa evidenciou camada híbrida contínua em todos os grupos, sendo observados prolongamentos resinosos mais numerosos e uniformes nos grupos tratados com hipoclorito de sódio e bromelina, enquanto a papaína apresentou prolongamentos mais finos e irregulares, embora associados ao melhor desempenho mecânico. Conclui-se que a desproteinização dentinária favorece a adesão de sistemas adesivos universais, sendo a papaína e a bromelina alternativas promissoras, biocompatíveis e eficazes ao hipoclorito de sódio para otimização da interface adesiva, com potencial aplicação clínica.

Palavras – chave: Dentina; Adesivos dentinários; Papaína; Bromelaínas.

Alves APAR. Dentin deproteinization as a strategy for optimizing adhesion in a universal adhesive system. [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2026.

ABSTRACT

Dentin adhesion remains one of the main challenges in restorative dentistry due to the structural complexity of this substrate and the degradation of the adhesive interface over time. In this context, dentin deproteinization has been proposed as a strategy to modify the organic component of the substrate. The present study evaluated the effect of dentin deproteinization using natural proteolytic enzymes, 10% papain and 8% bromelain, compared with 5.25% sodium hypochlorite and a control group, on micro-shear bond strength and the qualitative characteristics of the adhesive interface of a single universal adhesive system applied in the self-etch strategy. This was an in vitro experimental laboratory study conducted on bovine incisor teeth randomly distributed into four experimental groups. After surface treatments, the same universal adhesive system, labeled with Rhodamine B, was applied, allowing qualitative evaluation of the adhesive interface by laser scanning confocal microscopy. Bond strength was determined using the micro-shear test. The results showed that all deproteinization protocols significantly increased bond strength compared with the control group. Papain exhibited the highest mean bond strength and differed statistically from sodium hypochlorite, whereas bromelain showed intermediate performance without significant differences from the other deproteinizing agents. Qualitative analysis revealed a continuous adhesive interface in all groups, with more numerous and uniform resin tags observed in the sodium hypochlorite and bromelain groups, whereas papain presented thinner and more irregular resin tags. Because the confocal analysis was qualitative, these morphological observations were not quantitatively correlated with the mechanical results. The findings support further investigation of bromelain and papain as deproteinizing agents under the experimental conditions evaluated, without allowing conclusions about clinical biocompatibility or direct extrapolation to other adhesive systems.

Keywords: Dentin; Dentin-bonding agents; Papain; Bromelains.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 12

2 PROPOSIÇÃO 18

3 REVISÃO DA LITERATURA 19
3.1 A dentina e seus desafios.....19
3.2 A desproteinização como estratégia.....21
3.3 Papaína: características e aplicações em odontologia.....23
3.4 Bromelina: características e ação sobre o substrato dentinário.....24
3.5 Sistemas adesivos universais: composição, mecanismos de adesão e interação com substratos modificados.....26

4 MATERIAL E MÉTODO 28
4.1 Delineamento experimental.....28
4.2 Preparo das amostras.....29
4.3 Desproteinização da dentina.....30
4.4 Microscopia confocal de varredura a laser.....32
4.5 Resistência de união por microcisalhamento.....33
4.6 Análise estatística.....36

5 RESULTADO 37
5.1 Resistência de união ao cisalhamento.....37
5.2 Avaliação qualitativa da interface adesiva por microscopia confocal de varredura a laser.....40

6 DISCUSSÃO 42

7 CONCLUSÃO 46

REFERÊNCIAS 47

1 INTRODUÇÃO

A odontologia adesiva contemporânea fundamenta-se na busca por uma interface estável e duradoura entre o substrato dental e os materiais restauradores. Contudo, a dentina permanece como o maior desafio clínico, em razão de sua composição heterogênea, organização estrutural complexa e dinâmica de fluidos dentinários, fatores que condicionam de forma significativa o comportamento dos sistemas adesivos[1-2]. Enquanto a adesão ao esmalte é altamente previsível devido ao seu conteúdo mineral elevado[3], a dentina é composta por, aproximadamente, 70% de material inorgânico, sob a forma de cristais de hidroxiapatita, 20% de matriz orgânica (predominantemente colágeno tipo I), além de proteínas não colágenas, proteoglicanas, enzimas endógenas e 10% de água[4-5].

A adesão à dentina baseia-se na formação da camada híbrida, resultante da infiltração de monômeros resinosos em uma matriz colágena desmineralizada[6]. A integridade dessa camada depende do equilíbrio entre a extensão da desmineralização e a profundidade de infiltração dos monômeros. Quando a profundidade da desmineralização é maior do que a capacidade de penetração dos monômeros resinosos, formam-se zonas de colágeno não infiltrado, altamente vulneráveis à degradação hidrolítica e enzimática[7-10], o que pode comprometer a estabilidade da interface adesiva.

Diante dessas limitações inerentes ao substrato dentinário, diversas estratégias têm sido propostas para modificar a superfície dentinária e reduzir a vulnerabilidade da interface adesiva, entre elas a desproteinização, por meio da remoção ou modificação seletiva da matriz orgânica exposta após o condicionamento ácido[11-12], cuja a eliminação do colágeno não infiltrado exposto reduziria a área suscetível à degradação enzimática e hidrolítica, favorecendo a retenção micromecânica e a estabilidade química, potencialmente, melhorando a qualidade e a estabilidade da interface adesiva[13].

O hipoclorito de sódio, é um agente desproteinizante, com capacidade de remover eficientemente a fase orgânica da dentina condicionada, com resultados variáveis sobre a resistência de união em função do protocolo adotado. No entanto, seu potencial citotóxico e os efeitos adversos sobre as propriedades mecânicas da dentina representam limitações relevantes para sua adoção rotineira[14-15]. Nesse cenário, enzimas proteolíticas de origem natural, em especial, a papaína (*Carica*

papaya) e a bromelina (*Ananas comosus*), surgem como alternativas de origem natural que vêm sendo investigadas para a modulação do substrato dentinário[16-17].

Investigar com maior profundidade o comportamento bioquímico da papaína e da bromelina é essencial para justificar sua indicação como alternativa ao hipoclorito de sódio no protocolo de desproteinização dentinária. A papaína é uma cisteíno-protease extraída do látex de *Carica papaya*, pertencente à família das peptidases C1, cuja atividade catalítica depende de um resíduo de cisteína localizado no sítio ativo da enzima, responsável pela clivagem de ligações peptídicas presentes em cadeias proteicas alteradas[18]. Sua característica biológica central é a seletividade de substrato: a papaína hidrolisa, preferencialmente o colágeno tipo I já desnaturado ou parcialmente degradado, presente na dentina cariada, na *smear layer* ou na matriz colágena exposta após o condicionamento ácido, sem exercer ação proteolítica relevante sobre as fibrilas colágenas estruturalmente íntegras da dentina sadia[19]. É justamente essa propriedade que fundamenta o uso clínico consolidado da papaína em géis quimiomecânicos de remoção de cárie, como o Papacárie®, nos quais a enzima promove a dissolução seletiva do tecido cariado, preservando a estrutura dentária remanescente e reduzindo a necessidade de instrumentação rotatória e de anestesia local[19].

A bromelina, por sua vez, corresponde a uma mistura complexa de cisteíno-proteases obtidas do caule e do fruto do abacaxi (*Ananas comosus*), sendo classicamente subdividida em bromelina do caule (*stem bromelain*) e bromelina do fruto (*fruit bromelain*), que diferem entre si quanto à estrutura molecular e às propriedades catalíticas. Além da atividade proteolítica central, o extrato de bromelina contém peroxidases, fosfatases ácidas, inibidores de protease e cálcio organicamente ligado, o que confere à molécula um espectro biológico mais amplo do que o observado para a papaína[19]. Entre suas propriedades adicionais, está a atividade anti-inflamatória, evidenciada pela redução da expressão de citocinas pró-inflamatórias: interleucina 1β, interleucina 6 e interleucina 8 e, de moléculas de adesão celular em células da polpa dentária humana estimuladas por lipopolissacarídeo, efeito mediado pela inibição das vias de sinalização NF-κB e MAPK[20]. O mesmo estudo demonstrou que a bromelina, em concentrações não citotóxicas para células pulpares, é capaz de estimular a atividade da fosfatase alcalina e a formação de nódulos de mineralização, sugerindo um potencial bioestimulador que ultrapassa a simples função desproteinizante. Em nível sistêmico, esse comportamento anti-inflamatório já havia

sido atribuído, entre outros mecanismos, à clivagem proteolítica do ligante de glicoproteína P-selectina 1 (PSGL-1) na superfície de neutrófilos, reduzindo sua capacidade de adesão ao endotélio inflamado[21].

A opção pela papaína e pela bromelina como agentes desproteinizantes decorre, sobretudo, das limitações amplamente documentadas do hipoclorito de sódio. Enquanto o NaOCl atua por meio de um mecanismo físico-químico inespecífico, a liberação de ácido hipocloroso (HOCl) e hidróxido de sódio (NaOH) em meio aquoso, que promove oxidação e hidrólise indiscriminada de aminoácidos e proteínas, as enzimas de origem vegetal atuam por reconhecimento molecular específico de sítios de clivagem em cadeias polipeptídicas alteradas, o que restringe, ao menos teoricamente, sua ação ao colágeno desnaturado e reduz o risco de degradação da matriz colágena estruturalmente preservada[19].

Estudos sobre os efeitos do hipoclorito de sódio nas propriedades mecânicas da dentina radicular relatam evidências consistentes de que o NaOCl altera de forma adversa o módulo de elasticidade, a microdureza e a resistência à flexão da dentina, além de provocar desorganização estrutural das fibrilas colágenas, com formação de uma camada superficial mineral empobrecida de colágeno e, ampliação e fusão dos túbulos dentinários[22]. A esses efeitos somam-se seu potencial citotóxico sobre células pulpares e periodontais, seu sabor e odor desagradáveis e a dificuldade de controle da profundidade de penetração no substrato dentinário, fatores que, em conjunto, restringem a adoção rotineira do NaOCl como agente desproteinizante previamente à adesão[14]. É sobre essa base, seletividade biológica versus ação química inespecífica, que se apoia a hipótese de que a papaína e a bromelina possam produzir uma superfície dentinária desproteinizada com preservação estrutural superior, sem comprometer as propriedades mecânicas do substrato remanescente.

Embora existam evidências que sustentem biologicamente essa hipótese, a literatura científica ainda apresenta resultados controversos quanto à real superioridade da papaína e da bromelina sobre o hipoclorito de sódio em relação à resistência de união. Chauhan et al.[17] observaram que a remoção de fibras colágenas desprotegidas com bromelina após o condicionamento ácido resultou em resistência de união ao cisalhamento significativamente maior do que a obtida no grupo controle e no grupo tratado com NaOCl, sem diferença estatística entre este último e o controle. Resultado semelhante foi relatado por Alshahni et al.[23], que verificaram o aumento significativo da resistência de união ao esmalte e à dentina após pré-tratamento com

a bromelina atribuído à dissolução parcial da fase orgânica da *smear layer*, enquanto o pré-tratamento com papaína não produziu melhora estatisticamente significativa nos mesmos parâmetros. Em contrapartida, outros estudos não encontraram diferenças relevantes entre dentina tratada com papaína, bromelina ou hipoclorito de sódio[24] avaliando quatro agentes desproteinizantes (papaína, bromelina, NaOCl e dióxido de cloro) em dentina profunda, verificaram que apenas o dióxido de cloro promoveu aumento estatisticamente relevante da resistência de união, enquanto a papaína, bromelina e NaOCl não se diferenciaram entre si nem do grupo controle, sendo que a desproteinização com bromelina previamente à aplicação do adesivo universal em modo autocondicionante esteve, inclusive, associada a maior microinfiltração. Resultado similar foi descrito por Sharafeddin et al.[16,25] que não observaram alteração significativa da resistência de união ao cisalhamento da resina composta à dentina após tratamento com papaína ou bromelina a 10%, quando comparado ao condicionamento apenas com ácido fosfórico, o qual permaneceu como padrão-ouro nesse desfecho específico.

Por outro lado, estudos mais recentes conduzidos em substratos dentinários alterados, como a dentina erodida, têm demonstrado benefícios mais consistentes do pré-tratamento enzimático. Sirirangsee et al.[26] verificaram que a desproteinização com papaína em dentina erodida promoveu dissolução dos componentes orgânicos da superfície, aumento da espessura da camada híbrida, melhora da infiltração resinosa e estabilidade da resistência de união microtracional de adesivos autocondicionantes após termociclagem, evidenciada por redução significativa da razão amida/fosfato mensurada por espectroscopia Raman. Esses achados sugerem que o benefício da desproteinização enzimática pode ser mais evidente em substratos dentinários já comprometidos, como na erosão, cárie, dentina afetada, nos quais o conteúdo de colágeno desnaturado é proporcionalmente maior do que em dentina hígida condicionada apenas com ácido fosfórico, cenário no qual a quantidade de colágeno desnaturado disponível para digestão enzimática é mais limitada. Tal heterogeneidade de resultados foi sintetizada na revisão sistemática de Delgado et al.[12], segundo a qual algumas estratégias específicas de degradação de colágeno parecem exercer papel favorável sobre a resistência de união imediata à dentina, ainda que sejam necessários estudos adicionais, com metodologia padronizada, para consolidar esses achados.

A escolha da concentração de 8% de bromelina foi fundamentada em evidências experimentais prévias. Raymundo, em dissertação desenvolvida na Faculdade de Odontologia de Araraquara, avaliou a bromelina nas concentrações de 3% e 8% associada a um sistema adesivo universal empregado na estratégia autocondicionante, fornecendo suporte metodológico direto para a seleção da concentração utilizada no presente estudo[50]. Adicionalmente, Khatib et al. empregaram bromelina a 8%, pelo período de 1 minuto, como agente desproteinizante da dentina, corroborando tanto a concentração quanto o tempo de aplicação adotados[51]. Ressalta-se, entretanto, que o protocolo descrito por Khatib et al. incluiu condicionamento ácido prévio da dentina, diferindo da estratégia autocondicionante empregada nesta pesquisa. Assim, a concentração de 8% e o tempo de aplicação de 1 minuto foram definidos com base em protocolos previamente investigados, considerando-se, simultaneamente, as particularidades metodológicas deste estudo.

Entre as limitações reconhecidas da papaína e da bromelina como agentes desproteinizantes, destacam-se: a ausência de padronização quanto à concentração ideal, ao tempo de aplicação e à forma farmacêutica (solução aquosa ou gel), fatores que variam consideravelmente entre os estudos disponíveis e dificultam a comparação direta dos resultados[12]; a menor estabilidade da bromelina em comparação à papaína, decorrente de sua maior sensibilidade a variações de pH e temperatura, o que impõe desafios adicionais de formulação e conservação; a possibilidade de reações de hipersensibilidade e efeitos adversos gastrointestinais relatados em uso sistêmico da bromelina, ainda que de baixa frequência[18] e, principalmente, a inconsistência dos desfechos de resistência de união entre os estudos *in vitro* que, em diversos protocolos, não demonstraram superioridade estatisticamente significativa das enzimas naturais frente ao hipoclorito de sódio ou mesmo frente ao condicionamento ácido isolado[24]. A própria revisão sistemática de Delgado et al.[12] destaca que a concentração de bromelina sequer foi relatada em parte considerável dos estudos disponíveis e que a capacidade de degradação colágena da papaína durante períodos curtos de aplicação sobre dentina condicionada permanece questionável, reforçando a necessidade de protocolos mais bem padronizados quanto à concentração e ao tempo de exposição enzimática.

Diante desse cenário de heterogeneidade metodológica e de resultados ainda não plenamente consolidados, observa-se uma lacuna relevante na literatura quanto

à caracterização morfológica detalhada da interface resina-dentina obtida após desproteinização com papaína e bromelina, sobretudo, no que se refere à profundidade de penetração dos monômeros resinosos, à continuidade da camada híbrida e à presença de zonas de colágeno não infiltrado remanescente, parâmetros que a avaliação exclusivamente mecânica de resistência de união não é capaz de discriminar isoladamente.

Em paralelo, a evolução dos sistemas adesivos universais, formulados com monômeros funcionais como o 10-metacriloiloxidecil di-hidrogenofosfato (10-MDP), ampliou as possibilidades clínicas ao permitir múltiplas estratégias de aplicação e ao estabelecer ligação química com a hidroxiapatita residual da dentina[27-28]. Contudo, a efetividade dessa interação depende diretamente das condições do substrato dentinário, incluindo a proporção entre componentes orgânicos e inorgânicos disponíveis após o condicionamento. Assim, a modificação do substrato por agentes desproteinizantes pode influenciar tanto a disponibilidade de sítios minerais para interação química quanto a arquitetura da camada híbrida.

Apesar do crescente interesse pelo tema, a literatura ainda apresenta resultados heterogêneos quanto ao impacto da desproteinização dentinária na qualidade da interface adesiva, especialmente, quando associada a sistemas adesivos universais e avaliada por parâmetros morfológicos como a penetrabilidade dos monômeros e a continuidade da camada híbrida[12,24].

7 CONCLUSÃO

Com base na metodologia empregada e nos limites deste estudo *in vitro*, conclui-se que a desproteinização da dentina, independentemente do agente utilizado, promoveu aumento significativo da resistência de união ao microcisalhamento em comparação à dentina não tratada. Os agentes enzimáticos proteolíticos, bromelina a 8% e papaína a 10%, apresentaram desempenho igual ou superior ao do hipoclorito de sódio a 5,25%, com destaque para o grupo Papaína, que obteve os maiores valores médios de resistência de união. A análise qualitativa por microscopia confocal de varredura a laser revelou diferenças morfológicas entre os grupos quanto ao padrão de formação dos prolongamentos resinosos, mais evidentes e numerosos nos grupos Hipoclorito e Bromelina, sem que essas diferenças morfológicas se traduzissem diretamente em maior resistência de união.

Nas condições experimentais avaliadas, os resultados sustentam a continuidade da investigação da bromelina e da papaína como agentes desproteinizantes, mas não permitem estabelecer recomendações clínicas, conclusões sobre biocompatibilidade clínica ou extrapolação para outros sistemas adesivos. Estudos adicionais, com desenho longitudinal, avaliação quantitativa da interface adesiva e diferentes protocolos de concentração e aplicação, são necessários para aprofundar esses achados.

A conclusão foi interpretada exclusivamente dentro das condições experimentais deste estudo: dentes bovinos, um único sistema adesivo universal (Âmbar APS Universal), estratégia autocondicionante, concentrações de 5,25% de NaOCl, 8% de bromelina e 10% de papaína e avaliação imediata. Os resultados não permitem concluir sobre longevidade clínica, biocompatibilidade clínica ou desempenho de outros adesivos.

REFERÊNCIAS

1. 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; 27(1): 17-28.

2. 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; 28(3): 215-35.

3. Sharafeddin F, Yazdanpanah MH, Jowkar Z. Evaluation of the effects of bromelain and papain enzymes on shear bond strength of composite resin to enamel. Int J Dent. 2021 Jul 12;2021: 3233639.

4. Marshall GW Jr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. J Dent. 1997 Nov;25(6):441-58.

5. Tjäderhane, L., Carrilho, MR, Breschi, L., Tay, FR e Pashley, DH (2009), Overview of dentin structure. Endod Topics, 20: 3-29.

6. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. J Biomed Mater Res. 1982; 16(3): 265-73.

7. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, Tezvergil-Mutluay A. State of the art etch-and-rinse adhesives. Dent Mater. 2011; 27(1) :1-16.

8. Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. Dent Mater. 2001; 17(4): 296-308.

9. Almahdy A, Koller G, Sauro S, Bartsch JW, Sherriff M, Watson TF, Banerjee A. Effects of MMP inhibitors incorporated within dental adhesives. J Dent Res. 2012; 91(6): 605-11.

10. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, Toledano M, Pashley EL, Tay FR. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. Biomaterials. 2006; 27(25): 4470-6.

11. Dayem RN, Tameesh MA. A new concept in hybridization: Bromelain enzyme for deproteinizing dentin before application of adhesive system. Contemp Clin Dent. 2013; 4(4): 421-6.

12. HS Delgado A, Belmar Da Costa M, Polido MC, Mano Azul A, Sauro S. Collagen-depletion strategies in dentin as alternatives to the hybrid layer concept and their effect on bond strength: a systematic review. Sci Rep. 2022; 29;12(1): 13028.

13. Belmar da Costa M, Mano Azul A, Sauro S, Delgado AHS. Effects and Properties of Deproteinizing Methods in Dentin: A Comprehensive Narrative Review. J Funct Biomater. 2026; 2;17(6): 277.

14. Toledano M, Perdigão J, Osorio E, Osorio R. Influence of NaOCl deproteinization on shear bond strength in function of dentin depth. Am J Dent. 2002 ; 15(4): 252-5.

15. Perdigão J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. Dent Mater. 2010; 26(2): e24-37.

16. Sharafeddin F, Maroufi S. Effect of Er:YAG, Co2 lasers, papain, and bromelain enzymes dentin treatment on shear bond strength of composite resin. Clin Exp Dent Res. 2022; 8(6): 1575-1581.

17. Chauhan K, Basavanna RS, Shivanna V. Effect of bromelain enzyme for dentin deproteinization on bond strength of adhesive system. J Conserv Dent. 2015: 18(5): 360-3.

18. Cuc S, Moldovan A, Moldovan M, Sarosi C, Buduru S, Bacali C, Prodan D, Lazar V, Man SC. Effects of Bromelain and Papain in Tooth Whitening and Caries Removal: A Literature Review. Dent J (Basel). 2025; 16:13(3):132.

19. Santos TML, Bresciani E, Matos FS, Camargo SEA, Hidalgo APT, Rivera LML, Bernardino ÍM, Paranhos LR. Comparison between conventional and chemomechanical approaches for the removal of carious dentin: an in vitro study. Sci Rep. 2020; 15;10(1) :8127.

20. Hong JH, Kim MR, Lee BN, Oh WM, Min KS, Im YG, Hwang YC. Anti-Inflammatory and Mineralization Effects of Bromelain on Lipopolysaccharide-Induced Inflammation of Human Dental Pulp Cells. Medicina (Kaunas). 2021; 8;57(6): 591.

21. Banks JM, Herman CT, Bailey RC. Bromelain decreases neutrophil interactions with P-selectin, but not E-selectin, in vitro by proteolytic cleavage of P-selectin glycoprotein ligand-1. PLoS One. 2013; 11;8(11): e78988.

22. Pascon FM, Kantovitz KR, Sacramento PA, Nobre-dos-Santos M, Puppin-Rontani RM. Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. J Dent. 2009; 37(12): 903-8.

23. Alshahni RZ, Sato K, Hosaka K, et al. Effect of smear layer deproteinization with enzyme solutions on bonding efficacy of one-step self-etch adhesives. Int J Adhes Adhes. 2020;102: 102672.

24. Bedir F, Telatar GY. Comparison of different dentin deproteinizing agents on bond strength and microleakage of universal adhesive to-dentin. J Adhes Sci Technol. 2023;37(12):1894–912. doi: 10.1177/23202068231157998

25. Sharafeddin F, Safari M. Effect of Papain and Bromelain Enzymes on Shear Bond Strength of Composite to Superficial Dentin in Different Adhesive Systems. J Contemp Dent Pract. 2019; 1;20(9): 1077-1081.

26. Sirirangsee P, Tagami J, Sanon K, Botta R, Ngernsutivorakul T, Kusumasari C, Hiraishi N, Shimada Y, Thongthai P. Deproteinization with Papain enzyme improves the bonding performance of self-etch adhesives to eroded dentin. Sci Rep. 2025; 28: 15(1):10825.

27. Carrilho E, Cardoso M, Marques Ferreira M, Marto CM, Paula A, Coelho AS. 10-MDP Based Dental Adhesives: Adhesive Interface Characterization and Adhesive Stability-A Systematic Review. Materials (Basel). 2019; 7;12(5): 790.

28. Hardan L, Bourgi R, Kharouf N, Mancino D, Zarow M, Jakubowicz N, Haikel Y, Cuevas-Suárez CE. Bond Strength of Universal Adhesives to Dentin: A Systematic Review and Meta-Analysis. Polymers (Basel). 2021; 7;13(5): 814.

29. Pashley DH, Livingston MJ, Greenhill JD. Regional resistances to fluid flow in human dentine in vitro. Arch Oral Biol. 1978; 23(9): 807-10.

30. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. J Dent. 2002; 30(7-8): 371-82.

31. Mjör IA, Nordahl I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. Arch Oral Biol. 1996; 41(5): 401-12.

32. Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldeli S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. Dent Mater. 2013; 29(1): 116-35.

33. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. J Dent Res. 2004 Mar;83(3):216-21. doi: 10.1177/154405910408300306. PMID: 14981122.

34. Tay FR, Pashley DH. Have dentin adhesives become too hydrophilic? J Can Dent Assoc. 2003; 69(11): 726-31.

35. Kiuru O, Sinervo J, Vähänikkilä H, Anttonen V, Tjäderhane L. MMP Inhibitors and Dentin Bonding: Systematic Review and Meta-Analysis. Int J Dent. 2021; 27: :9949699.

36. Montagner AF, Sarkis-Onofre R, Pereira-Cenci T, Cenci MS. MMP Inhibitors on Dentin Stability: A Systematic Review and Meta-analysis. J Dent Res. 2014; 93(8): 733-43.

37. Breschi L, Maravic T, Cunha SR, Comba A, Cadenaro M, Tjäderhane L, Pashley DH, Tay FR, Mazzoni A. Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. Dent Mater. 2018; 34(1): 78-96.

38. Fernández-Barrera MÁ, da Silva AF, Pontigo-Loyola AP, Zamarripa-Calderón JE, Piva E, Cuevas-Suárez CE. The Effect of Deproteinizing Agents on Bond Strength of Resin-based Materials to Enamel: A Systematic Review and Meta-Analysis of In Vitro Studies. J Adhes Dent. 2021; 23;23(4): 287-296.

39. Abou Neel EA, Knowles JC, Bozec L. Effect of sodium hypochlorite on adhesive characteristics of dentin: a systematic review of laboratory-based testing. Int J Adhes Adhes. 2019; 93: 102340.

40. Khan R, Sharma N, Garg Y, Kumar G, Garg K, Aleemuddin M. Comparison of Different Dentin Deproteinizing Agents on the Shear Bond Strength of Resin-bonded Dentin. Int J Clin Pediatr Dent. 2020; 13(Suppl 1): S69-S77.

41. Marshall GW, Yücel N, Balooch M, Kinney JH, Habelitz S, Balooch G. Sodium hypochlorite alterations of dentin and dentin collagen. Surf Sci. 2001; 491(1-3): 444-455.

42. Tsuge H, Nishimura T, Tada Y, Asao T, Turk D, Turk V, Katunuma N. Inhibition mechanism of cathepsin L-specific inhibitors based on the crystal structure of papain-CLIK148 complex. Biochem Biophys Res Commun. 1999; 20;266(2): 411-6.

43. Motta LJ, Bussadori SK, Campanelli AP, Silva AL, Alfaya TA, Godoy CH, Navarro MF. Efficacy of Papacarie(®) in reduction of residual bacteria in deciduous teeth: a randomized, controlled clinical trial. Clinics (Sao Paulo). 2014; 69(5): 319-22.

44. Pavan R, Jain S, Shraddha, Kumar A. Properties and therapeutic application of bromelain: a review. Biotechnol Res Int. 2012; 2012: 976203.

45. Al-Badri H, Al-Taee LA, Banerjee A, Al-Shammaree SA. An in-vitro evaluation of residual dentin retained after using novel enzymatic-based chemomechanical caries removal agents. Sci Rep. 2024; 14(1): 19223.

46. Romano LK, Soares EJ, Alves Amorim A, Geng Vivanco R, Pires-de-Souza FCP. Effect of natural agents on the bond strength to eroded dentin. J Esthet Restor Dent. 2024; 36(5): 770-777.

47. Sharafeddin F, Jowkar Z, Safari M. Effects of different concentrations of bromelain and papain enzymes on shear bond strength of composite resin to deep dentin using an etch-and-rinse adhesive system. Dent Med Probl. 2024: 61(1): 85-91.

48. Yoshihara K, Yoshida Y, Nagaoka N, Fukegawa D, Hayakawa S, Mine A, et al. Nano-controlled molecular interaction at adhesive interfaces for hard tissue reconstruction. Acta Biomater. 2010; 6(9): 3573–82.

49. Fehrenbach J, Isolan CP, Münchow EA. Is the presence of 10-MDP associated to higher bonding performance for self-etching adhesive systems? A meta-analysis of in vitro studies. Dent Mater. 2021; 37(10): 1463-1485.

50. Raymundo SF. Efeito do tratamento do substrato dentinário com bromelina, nas concentrações 3% e 8%, sobre a interface de adesão com o adesivo universal na estratégia autocondicionante. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas, área de Dentística Restauradora). Araraquara: Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2025.

51. Khatib MS, Devarasanahalli SV, Aswathanarayana RM, Venkateswara AH, Nadig RR. Microtensile bond strength of composite resin following the use of bromelain and papain as deproteinizing agents on etched dentin: an in vitro study. Int J Clin Pediatr Dent. 2020;13(1): 43-47.

52. Soares FZM, Follak A, da Rosa LS, Montagner AF, Lenzi TL, Rocha RO. Bovine tooth is a substitute for human tooth on bond strength studies: a systematic review and meta-analysis of in vitro studies. Dent Mater. 2016;32(11): 1385-1393.