



## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### EFECTOS DE DIFERENTES ACONDICIONADORES ÁCIDOS SOBRE LAS PROPIEDADES DEL SUSTRATO DENTINARIO. THE EFFECTS OF DIFFERENT ACID CONDITIONERS ON THE PROPERTIES OF DENTINARY SUBSTRATE.

CAIO REBOUÇAS CORDEIRO<sup>1</sup>, CLÁUDIO MOREIRA JÚNIOR<sup>2</sup>, RAFAEL PINTO DE MENDONÇA<sup>2</sup>, LUCÉLIA LEMES GONÇALVES<sup>3</sup>, JURACI PEREIRA<sup>4</sup>, DAPHNE CAMARA BARCELLOS<sup>4</sup>, SÉRGIO EDUARDO DE PAIVA GONÇALVES<sup>5</sup>.

1 Cirujano-dentista. Instituto de Ciência y Tecnología, Universidad Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, São José dos Campos, SP, Brasil.

2 Cirujano-dentista. Estudiante de posgrado en Odontología Restauradora del Instituto de Ciencia y Tecnología, Universidad Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, São José dos Campos, SP, Brasil.

3 Cirujano-dentista. Coordinadora del programa de Odontología de la Universidad Anhanguera, Campus de São José dos Campos, SP, Brasil.

4 Cirujano-dentista. MS, PhD. Profesor Asociado del Departamento de Prótesis Dental de la Universidad Federal del Espírito Santo, Vitória, ES, Brasil

5 Cirujano-dentista. MS, PhD. Professor titular del Departamento de Odontología Restauradora del Instituto de Ciencia y Tecnología, Universidad Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, São José dos Campos, SP, Brasil. sergio.e.goncalves@unesp.br

Volumen 11.  
Número 2.  
Mayo - Agosto 2022

Recibido: 18 octubre 2021  
Aceptado: 20 diciembre 2021

## RESUMEN

Existen diferentes ácidos que son capaces de acondicionar el sustrato dentario, proporcionando patrones distintos de acondicionamiento, y que dependen del pH, del tiempo de exposición y de la concentración de dichos ácidos. El acondicionamiento ácido afecta las propiedades físicas y químicas, tanto de la parte mineral como de la parte orgánica del tejido. Así, el objetivo es describir los efectos de diversos acondicionadores ácidos sobre los sustratos esmalte y dentina, previos a la utilización de sistemas adhesivos. Este estudio fue realizado por medio de una recopilación bibliográfica en las bases de datos PubMed, Scopus y Scielo. Se incluyeron artículos publicados, en inglés o portugués, entre 1950 y 2020. Se constató que: el uso de ácidos más débiles y en menor concentración, asociados o no a agentes estabilizantes/fijadores de colágeno, fue menos agresivo al sustrato dentinario que el ácido fosfórico, debido a que causa una menor profundidad de desmineralización y consecuentemente menor exposición de fibras colágenas sujetas a hidrólisis, cuando no están incorporados por los monómeros adhesivos; las lesiones cervicales no cariosas representan el sustrato más desafiante y con resultados más impredecibles de adhesión longitudinal; la adhesión al esmalte sólo es efectiva con el acondicionamiento con ácido fosfórico; los adhesivos simplificados generalmente presentan resultados de resistencia adhesiva inferiores a los de frascos separados, principalmente aquellos que no presentan una capa hidrófuga externa; los resultados in vitro no pueden ser directamente extrapolados a situaciones in vivo; no existen evidencias científicas que apoyen el uso de inhibidores de MMP en la rutina del protocolo adhesivo.

**Palabras clave:** Ácidos; Adhesivos Dentinarios; Colágeno; Dentina.



## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### EFECTOS DE DIFERENTES ACONDICIONADORES ÁCIDOS SOBRE LAS PROPIEDADES DEL SUSTRATO DENTINARIO.

### THE EFFECTS OF DIFFERENT ACID CONDITIONERS ON THE PROPERTIES OF DENTINARY SUBSTRATE.

CAIO REBOUÇAS CORDEIRO<sup>1</sup>, CLÁUDIO MOREIRA JÚNIOR<sup>2</sup>, RAFAEL PINTO DE MENDONÇA<sup>2</sup>, LUCÉLIA LEMES GONÇALVES<sup>3</sup>, JURACI PEREIRA<sup>4</sup>, DAPHNE CAMARA BARCELLOS<sup>4</sup>, SÉRGIO EDUARDO DE PAIVA GONÇALVES<sup>5</sup>.

1 Cirujano-dentista. Instituto de Ciência y Tecnología, Universidad Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, São José dos Campos, SP, Brasil.

2 Cirujano-dentista. Estudiante de posgrado en Odontología Restauradora del Instituto de Ciencia y Tecnología, Universidad Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, São José dos Campos, SP, Brasil.

3 Cirujano-dentista. Coordinadora del programa de Odontología de la Universidad Anhanguera, Campus de São José dos Campos, SP, Brasil.

4 Cirujano-dentista. MS, PhD. Profesor Asociado del Departamento de Prótesis Dental de la Universidad Federal del Espírito Santo, Vitória, ES, Brasil

5 Cirujano-dentista. MS, PhD. Professor titular del Departamento de Odontología Restauradora del Instituto de Ciencia y Tecnología, Universidad Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, São José dos Campos, SP, Brasil. sergio.e.goncalves@unesp.br

Volumen 11.  
Número 2.  
Mayo - Agosto 2022

Recibido: 18 octubre 2021  
Aceptado: 20 diciembre 2021

## ABSTRACT:

Different acids are able to condition the dental substrate, providing different conditioning patterns, which depend on the pH, exposure time and concentration of these acids. Conditioning affects the physical and chemical properties of both the mineral and organic parts (collagen fibers) of dental tissues. Thus, the objective is to describe the effects of different type of conditioning on the enamel and dentin substrate, as a required pre-treatment before the use of adhesive systems. This study was carried out by means of a bibliographic survey in the PubMed, Scopus and Scielo databases. Articles published in English or Portuguese between the years 1950 and 2020 were and included. It was observed that weak acids in low concentration, associated or not with collagen stabilizing/fixing/crosslinking agents, when compared to phosphoric acid, it is shown a type of conditioning that is less aggressive to the dentin substrate, as they cause less depth demineralization and consequently less exposure of collagen fibers that would be subject to hydrolysis, when not properly incorporated by the adhesive monomers; non-cariou cervical lesions represent the most challenging substrate and offer the most unpredictable results of longitudinal bonding; adhesion to enamel is only effective with total-etch technique/phosphoric acid; simplified adhesives generally offer lower bond strength results than separate bottles, especially those that do not offer an external hydrophobic layer; in vitro results cannot be directly extrapolated to in vivo situations; there is no scientific evidence to support the use of MMP inhibitors in the routine of the adhesive protocol.

**Keywords:** Acids; Dentine adhesives; Collagen; Dentin.



## INTRODUCCIÓN

Buonocore, en 1955<sup>1</sup>, adaptó para la Odontología la técnica de acondicionamiento ácido empleada en la industria naval con el objetivo de mejorar el desempeño adhesivo de la resina acrílica a la superficie del esmalte. La era pos Buonocore, conocida como “era adhesiva”, estuvo marcada por investigaciones que tenían como objetivo mejorar el desempeño de los adhesivos a través de diferentes estrategias de tratamiento de los sustratos dentales para mantener la estabilidad de la interfaz adhesiva longitudinalmente. En este proceso evolutivo, la adhesión al esmalte utilizando la técnica del acondicionamiento ácido se mostró estable y duradera<sup>2,3</sup>.

Sin embargo, cuando esta técnica se aplicó a la dentina no se obtuvieron resultados tan previsibles, debido a las diferencias morfológicas y fisiológicas inherentes de este tejido en relación al esmalte<sup>3</sup>. La adhesión a la dentina ocurre por una desmineralización superficial, de manera parcial o total, ya sea por el acondicionamiento total (con ácido fosfórico al 37%) o por una acción ácida de primers autoacondicionantes, seguida por una infiltración de monómeros resinosos en las porosidades creadas por estas formas de acondicionamientos en la matriz del colágeno, que, cuando se polimerizan, se interligan mecánica y químicamente a esta trama colágena, resultando en la formación de la capa híbrida o zona de interdifusión<sup>4,5</sup>.

Las diferentes profundidades de desmineralización generadas por variados agentes acondicionadores con diferentes pH, variabilidad en la profundidad dentinaria expuesta al acondicionamiento, diferentes grados de humedad del tejido y diferencias morfológicas de los diferentes tejidos y tipos de dentina (afectada, hipermineralizada y esclerótica), influyen directamente la calidad de la hibridación y requieren de un alto grado de sofisticación de las formulaciones de los sistemas adhesivos, a fin de que puedan resistir longitudinalmente cuando se suman a estas dificultades inherentes a los tejidos, los desafíos exógenos como: humedad constante del medio bucal, ciclos de pH, microorganismos, ciclos térmicos y estrés oclusal<sup>6-11</sup>.

La evolución en el campo de la adhesión ha estado muy enfocada en el desarrollo de productos que procuran reducir las etapas operatorias y el número de frascos, con el fin de tornar los sistemas más user-friendly con el operador. A pesar de la preferencia por la simplificación de los pasos, las investigaciones evidencian que existen pérdidas clínicas significativas, sobre todo en los productos anunciados por los fabricantes como con propiedades especiales, sin que las mismas hayan sido comprobadas y apoyadas por evidencias<sup>6</sup>.

De esta manera, comprender la dinámica adhesiva que ocurre en el tratamiento previo de los tejidos, a través de la comparación de los comportamientos entre los diferentes tipos de acondicionamiento ácido utilizados en la práctica clínica, puede ofrecer elementos esenciales para la comprensión sobre la previsibilidad del éxito de la técnica, así como sobre los diferentes tipos de padrones morfofisiológicos dentinarios que afectarán diversas propiedades físico-químicas de este sustrato, considerado el mayor desafío del proceso adhesivo.

Así, este trabajo de revisión discute los mecanismos para establecer una efectiva capa híbrida en el esmalte y dentina a través de las diferentes estrategias adhesivas, y si el comportamiento

laboratorial de estos sistemas puede traducirse en una relevancia clínica.

## MÉTODOS

Se realizó una recopilación bibliográfica en las bases de datos PubMed, Scopus y Scielo. Fueron considerados e incluidos artículos publicados en inglés o portugués, entre los años 1950 y 2020. La búsqueda se realizó utilizando las siguientes palabras clave: dentina, ácido fosfórico, ácido poliacrílico, ácido cítrico, colágeno, resistencia a la tracción, sistemas adhesivos, adhesivos dentinarios.

## EVOLUCIÓN DE LOS SISTEMAS ADHESIVOS

La introducción del acondicionamiento ácido para el tratamiento de la superficie del esmalte dental con finalidad adhesiva proporcionó una sensible mejora en las propiedades físico-químicas, en la retención y en la resistencia de la resina al esmalte dentario, así como el sellado periférico y la adaptación de la resina a los márgenes de la restauración<sup>1</sup>. Entretanto, la dentina se caracteriza como un complejo biológico hidratado y poroso, compuesto por fluido dentinario y túbulos que se encuentran cercados por una zona peritubular altamente mineralizada, insertados en una matriz intertubular predominantemente constituida por colágeno tipo I y cristales de apatita. Su proporción en volumen es de 50 % de mineral, 30% de materia orgánica y 20 % de fluido similar al plasma<sup>6,14</sup>.

Los adhesivos dentinarios de primera generación, con base en ácido glicerosfosfórico dimetacrilato (GPDM), surgieron entre las décadas de 1950 y 1960<sup>1</sup> con la premisa de que el GPDM podría tener un potencial de unión iónica con la hidroxiapatita a través del grupo funcional fosfato. Sin embargo, actualmente se conoce que el GPDM es incapaz de establecer uniones estables con la hidroxiapatita<sup>15</sup>. Además, eran hibrófugos y presentaron baja resistencia de unión. En la búsqueda de mejores propiedades, se agregaron comonómeros al GPDM, como el NPG-GMA (N-fenil glicina y glicidil metacrilato)<sup>16</sup>. Sin embargo, muy rápidamente se presentaron inestables y con baja resistencia adhesiva (2-3 MPa). La búsqueda por la interacción química tanto con la porción inorgánica de los tejidos dentales (hidroxiapatita) como con la porción orgánica (colágeno), llevó al desarrollo de los sistemas adhesivos de segunda generación hacia al final de la década de 1970. Las formulaciones comprendían ésteres de fosfato derivados del metacrilato, que ya se aplicaban combinados a las resinas compuestas<sup>15, 17</sup>. A pesar de ello, seguían siendo hidrófugos, dando como resultado un pobre humedecimiento y bajas fuerzas adhesivas, ya que no se retiraba el smear layer y la resistencia adhesiva se configuraba en la propia resistencia adhesiva de este smear a la dentina (5 MPa). La idea de la tercera generación de sistemas adhesivos surgió a partir de los trabajos de Fusayama et al., 1979<sup>3</sup>, con el acondicionamiento ácido total del esmalte y dentina, introduciendo el pretratamiento dentinario, que eliminaba o modificaba el smear layer superficial, iniciando las discusiones sobre la necesidad de eliminar o no esta capa a partir del análisis de las ventajas y desventajas de esta maniobra. En este momento surgió el monómero MDP (10-Metacriloliloxidecil dihidrogênio fosfato) con el sistema Clearfil New Bond (Kuraray), hasta hoy uno de los más eficaces agentes de unión química a la hidroxiapatita dentinaria, pero que en aquella época no se empleó para tal finalidad, ya que el ácido fosfórico previo



removía la porción mineral necesaria a la adhesión química con el MDP. Además, a fin de evitar daños pulpares, se preconizaron otros agentes de pretratamiento menos agresivos, como el EDTA al 17%. Este agente quelante de calcio, también era capaz de remover/modificar el smear layer y estaba presente en el sistema GLUMA (Bayer). Con la misma finalidad, también se utilizó el ácido maleico al 2,5%, asociado al monómero funcional HEMA (2-Hidroxietil metacrilato en el sistema Scotchbond<sup>2</sup> (3M Dental), tornándose el primer gold standard de la época, con aprobación de la ADA (American Dental Association)<sup>6,15</sup>. Los resultados de resistencia adhesiva pasaron a valores significativos con el tratamiento del smear layer (15 MPa)<sup>18,19</sup>.

La cuarta generación de adhesivos representó un avance en el desarrollo de los materiales y en el mecanismo de acción de los sistemas adhesivos, donde se preconizó la aplicación de ácido fosfórico, cítrico, maleico o nítrico en concentraciones más bajas (10%), tanto en esmalte como de dentina. No obstante, el proceso se tornó más sensible debido al número de pasos de acondicionamiento de los tejidos (esmalte y dentina), acondicionamiento de la dentina con primers y aplicación del adhesivo propiamente dicho. En el esmalte dental, el ácido fosfórico disuelve la hidroxiapatita de la superficie, aumentando su área (microporos), promoviendo el aumento de la energía superficial y el adecuado humedecimiento por la reducción del ángulo de contacto. A continuación, el adhesivo penetra en las microporosidades con la formación de tags resinosos, y, consecuentemente, la capa adhesiva se establece mecánicamente por la interdifusión del adhesivo entre los cristallitos de hidroxiapatita (hibridización en esmalte). En el tejido dentinario, el ácido fosfórico remueve el smear layer y los smear plugs, abre la embocadura de los túbulos dentinarios y elimina la fase mineral del sustrato intertubular, con mínima alteración de la matriz orgánica colágena, que será interpenetrada por el adhesivo. Una vez polimerizado, material y sustrato forman una nueva entidad, híbrida y ácido-resistente, denominada capa híbrida en dentina<sup>18-20</sup>. El sistema adhesivo propuesto originalmente por Nakabayashi *et al.*<sup>5</sup>, estaba compuesto por una solución acondicionadora denominada 10:3 (ácido cítrico al 10% y cloruro férrico al 3%) y MMATTBO (Metilmetacrilato Tri-N-butil-burano oxidizado), siendo el cloruro férrico un agente fijador del colágeno, de modo que permite la penetración eficaz del sistema adhesivo entre las fibras colágenas no colapsadas. No obstante, la evolución de los sistemas adhesivos llevó a la incorporación del HEMA a las formulaciones de los primers. Incluso sin el agente fijador (cloruro férrico), el HEMA, que es una molécula de bajo peso molecular, es capaz de infiltrarse entre las fibras colapsadas de colágeno y promover su re-expansión, garantizando la formación de una capa híbrida eficaz. El HEMA es un monómero presente hasta hoy en las formulaciones, que también actúa como un co-solvente para otros monómeros, previniendo la separación de las fases del adhesivo<sup>14,15</sup>. Sin embargo, esta molécula presenta desventajas como bajo potencial de polimerización por poseer cadena lineal, alta tasa de sorción de agua, baja contribución a las propiedades mecánicas y potencial citotóxico<sup>15</sup>. Los primers actuales contienen también monómeros disueltos en agua, alcohol o acetona, donde el solvente actúa como un facilitador de la infiltración del monómero entre las fibras desmineralizadas. La técnica requiere un secado leve después de la aplicación, para promover la evaporación de ese solvente y la formación de una capa híbrida en torno de 4-6µm de profundidad. Se observa así la característica hidrofilia de los primers, que prepara el medio para recibir la resina adhesiva hidrófuga. Varios

investigadores<sup>21-23</sup> observaron la formación de una zona de fragilidad con ese tipo de sistema, causada por la diferencia entre la profundidad de desmineralización y la capacidad de penetración del adhesivo, con la consecuente nanofiltración en la intimidad de la propia capa híbrida, incluso en ausencia de gaps externos.

La quinta generación estuvo marcada por la simplificación del procedimiento adhesivo convencional, con aplicación del acondicionamiento ácido en el esmalte y dentina (total etch), seguido de la aplicación del primer y bond, ahora contenidos en un frasco único con el objetivo de reducir el número de pasos clínicos, el tiempo de trabajo, la posibilidad de errores técnicos y la aparición de la zona de fragilidad<sup>18</sup>. Comparados a los sistemas adhesivos de tres pasos, los adhesivos simplificados en frasco único presentaban deficiencias, como un menor contenido de resina y un mayor contenido de solvente, capa adhesiva muy delgada con baja absorción de estrés, alta hidrofiliidad, permeabilidad, mayor sorción de agua, menor resistencia adhesiva y performance clínica inferior<sup>15</sup>.

Debido a la tendencia de simplificación de los procedimientos adhesivos a los sustratos dentales surgieron los sistemas adhesivos de sexta generación (autoacondicionantes de dos pasos-primer y bond en frascos separados) y séptima generación (autoacondicionantes de paso único o all-in-one, en frasco único), que eliminan la etapa del acondicionamiento ácido previo convencional con ácido fosfórico. Estos sistemas presentan monómeros resinosos ácidos en su composición y eliminan la etapa de lavado<sup>24,25</sup>. En la composición de estos sistemas se introdujeron monómeros resinosos capaces de unirse químicamente a la dentina, como el 10-MDP, que contiene un grupo metacrilato polimerizable y un grupo fosfato capaz de formar nanocapas de sales estables de calcio con la hidroxiapatita, correlacionada con la alta resistencia de unión del MDP a la dentina<sup>26</sup>. También presenta una interacción hidrófuga estable con el colágeno, que es responsable de la mejora en la adhesión química y la reducción de la degradación hidrolítica (sistemas de dos pasos)<sup>26-28</sup>. También se le adicionaron otros monómeros funcionales a los adhesivos, como 4-MET y fenil-P, que presentan, de manera similar, una interacción química al calcio de la hidroxiapatita, aunque con menor estabilidad longitudinal en los medios acuosos que el 10-MDP<sup>26-28</sup>.

De acuerdo con la agresividad o acidez los sistemas autoacondicionantes de uno o dos pasos pueden subdividirse en: fuertes (pH<1.0); intermedios (pH entre 1-2); débiles (pH = 2) y; ultradébiles (pH>2.5). A pesar de que la propuesta autoacondicionante es efectiva para la dentina, no sucedió lo mismo para el esmalte, por la poca capacidad de establecer el patrón de acondicionamiento deseado en este tejido, debido al pH de las formulaciones. Clínicamente este inconveniente puede solucionarse con el acondicionamiento convencional del esmalte con ácido fosfórico, reconociéndose esta técnica como acondicionamiento selectivo del esmalte. Los sistemas autoacondicionantes de dos pasos son preferibles a los de un paso por permitir la aplicación de una capa extra sólo de resina hidrófuga, contenida en el segundo frasco y que garantiza mayor estabilidad longitudinal con menor grado de degradación<sup>6</sup>.

En los últimos años se introdujo en el mercado la octava generación de sistemas adhesivos, el sistema adhesivo universal, que puede utilizarse por medio de las estrategias de acondicionamiento ácido total o autoacondicionante con acondicionamiento



to selectivo de esmalte y presentación en un único frasco. Son sistemas versátiles con la propuesta de utilizarse para restauraciones directas e indirectas, como primers de zirconia y silanización de cerámicas de matriz vítrea, ya que contienen silano en su composición<sup>6,18</sup>. Sin embargo, las investigaciones más actuales muestran que cuando se utiliza con la técnica de acondicionamiento ácido total, el MDP no forma una nanolayer efectiva sobre la dentina, ya que dicha capa es dependiente del calcio, siendo que este Ca<sup>++</sup> se elimina de la superficie en los casos de acondicionamiento total. Chen *et al.*<sup>29</sup> (2015) consideran que los sistemas universales son, en realidad, “vinos antiguos en botellas nuevas”, cuando mucho se diferencian de sus antecesores de acondicionamiento ácido total o autoacondicionante.

En la actualidad, la clasificación en generaciones ha cedido su lugar a la clasificación de acuerdo con el modo de tratamiento de las superficies e interacción con el smear layer: sistemas de acondicionamiento ácido total de tres pasos ER - Etch and Rinse (ácido fosfórico + primer + bond); de acondicionamiento ácido total de dos pasos ER (ácido fosfórico + primer/bond); autoacondicionantes de dos pasos SE - Self Etch (primer ácido + bond) y autoacondicionantes de un paso SE (ácido/primer/bond todos en un único frasco). De esta manera, permanecen las tres etapas primordiales de adhesión al sustrato dentinario: i) desmineralización dentinaria superficial, remoción completa o parcial del smear layer y exposición de la malla de colágeno; ii) aplicación e infiltración del primer bifuncional hidrófilo/hidrófugo en la zona desmineralizada; iii) llenado de los espacios entre las fibras colágenas con resina adhesiva (bond a base de metacrilatos), sellando la abertura de los túbulos dentinarios<sup>15,18</sup>.

## EL SUSTRATO DENTINARIO Y LOS ACONDICIONADORES

Para comprender mejor los diferentes protocolos de la Odontología adhesiva, este tópico de revisión de literatura tuvo como objetivo buscar la forma de entender, tanto el efecto de los diferentes protocolos de acondicionamiento ácido en la resistencia de unión adhesiva, así como también vislumbrar la forma como el acondicionamiento ácido afecta la disponibilidad de minerales en el tejido dentinario. Además se investigó el efecto del acondicionamiento ácido sobre las fibras colágenas dentinarias, vitales para formación de la capa híbrida<sup>5,30,31</sup>. Finalmente, se presenta una breve revisión del impacto causado por los acondicionadores en la activación de las enzimas endógenas metaloproteinasas de la matriz (MMP) y cómo éstas podrían afectar la calidad y longevidad de la interfaz adhesiva.

Para comprender el mecanismo de adhesión es esencial conocer las principales características físico-químicas del sustrato dentinario, ya que la formación de una interfaz adhesiva está precedida de una serie de tratamientos que alteran considerablemente sus propiedades intrínsecas<sup>15, 31- 33</sup>.

Idealmente, el sistema adhesivo debería ser: biocompatible, resistente a las fuerzas masticatorias, presentar propiedades mecánicas semejantes a las de las estructuras dentinarias, resistente a la degradación en el medio bucal, de fácil uso clínico y adherirse indiferentemente al esmalte y a la dentina. Así, el desarrollo técnico-científico de sistemas adhesivos ha ocurrido en la búsqueda de una alta resistencia de unión, baja microfiltración,

biocompatibilidad, facilidad de técnica y adhesión efectiva y durable<sup>30-33</sup>.

Los más recientes sistemas adhesivos han incorporado componentes hidrófilos, como moléculas de HEMA que desplazan la humedad de la dentina acondicionada, obteniendo una íntima interacción con el tejido dentinario intertubular y peritubular desmineralizado, y formando una zona de interdifusión<sup>4,5,15,34-36</sup>, inicialmente descrita por Nakabayashi *et al.*, en 1982<sup>5</sup>.

Sin embargo, el sustrato dentinario no es igual en todos los individuos, pudiendo variar su composición y microestructura de acuerdo con los procesos fisiológicos continuos y las alteraciones patológicas<sup>15,21,32,33,37</sup>. Tal sustrato puede, por lo tanto, diferir bastante del tejido dentinario normal, rutinariamente usado en el laboratorio para probar la eficacia de los adhesivos. El tejido dentinario esclerótico, por ejemplo, es un sustrato clínico alterado y muy presente. Además de la esclerosis fisiológica de la dentina como parte de un proceso de envejecimiento de las piezas dentinarias, el complejo dentino-pulpar es capaz de desarrollar mecanismos de defensa específicos contra injurias externas. La esclerosis reactiva ocurre como respuesta a las irritaciones lentamente progresivas o leves como abrasión mecánica, erosión ácida, caries, procedimientos operatorios agresivos y atrición dental, propiciando un tejido dentinario con obliteración parcial o total de los túbulos y canalículos dentinarios, con permeabilidad significativamente reducida<sup>31,32,37,38</sup>.

Muchas investigaciones han mostrado que la dentina esclerótica responde de forma diferente al acondicionamiento ácido y a los procedimientos adhesivos que la dentina normal<sup>31,37,38</sup>. Van Meerbeek *et al.*<sup>38</sup>, sugirieron que el acondicionamiento de la dentina esclerótica peritubular e intertubular es más difícil, lo que resulta en una capa híbrida más fina y con menor formación de prolongaciones resinosas en el interior de los túbulos dentinarios, o incluso inexistentes en algunas zonas. Esta obliteración tubular en la dentina esclerótica aparentemente permanece después de los procedimientos de acondicionamiento ácido<sup>37</sup>. Además, en áreas particulares, la formación efectiva de prolongaciones resinosas es impedida por los núcleos escleróticos que se extienden por encima de la superficie dentinaria mineralizada y se proyectan en la zona de interdifusión. Estos núcleos minerales son comúnmente vistos en la dentina esclerótica, pero también pueden observarse en la dentina afectada por caries<sup>39,40</sup>. En la dentina esclerótica, casi todos los túbulos están ocluidos, y así, la adhesión a este sustrato parece depender únicamente de la interdifusión del sistema adhesivo en la dentina intertubular y/o de la unión química<sup>31,37,38</sup>. Un factor muy significativo a ser observado es que en prácticamente todas las situaciones clínicas, el sistema adhesivo deberá enfrentar simultáneamente varios tipos de tejidos como esclerosis, hipermineralización y desmineralización (dentina afectada) en una misma pieza dental.

Otro factor que interfiere en la calidad de la hibridación de la dentina es la profundidad, ya que a medida que la profundidad del tejido dentinario aumenta, mayor serán la permeabilidad y la humedad, sobre todo después de la remoción del smear layer. En consecuencia, cuanto mayor sea la permeabilidad dentinaria, menor es la resistencia adhesiva de la restauración<sup>32,33</sup>. Por ello, es necesario utilizar protocolos de acondicionamiento con menor poder de penetración o de desmineralización dentinaria. El tipo de ácido, pH, concentración, viscosidad y tiempo<sup>41-43</sup> tendrán efecto directo sobre esta profundidad de desmineralización. La



dentina es un tejido hidrófilo, relativamente impermeable y ácido-lábil. Sin embargo, después del ataque ácido el tejido se torna más orgánico y altamente permeable, y, después de la aplicación del sistema adhesivo, hidrófugo y ácido-resistente<sup>39,44</sup>.

Cuando los acondicionadores de ácido fosfórico se aplican a los sustratos dentinarios para la remoción del smear layer, la subsuperficie de este tejido se desmineraliza y se exponen las fibras colágenas. Para lograr una adhesión estable, los monómeros resinosos deben penetrar en el tejido dentinario subsuperficial desmineralizado, produciendo la hibridización de la dentina con el sistema adhesivo<sup>3-5,15</sup>. El grado de penetración de los monómeros depende, en parte, de las características de la red de fibras colágenas desmineralizadas antes de la aplicación del adhesivo resinoso.

Aunque algunos autores han observado que el espesor de la capa híbrida no tiene influencia sobre la resistencia de unión<sup>44,45</sup>, se especula que el acondicionamiento durante 30s con ácido fosfórico 37% puede propiciar una exposición más adecuada de las fibras colágenas intertubulares en los tejidos dentinarios escleróticos, a través de la remoción de un mayor contenido mineral, optimizando la penetración del adhesivo, lo que aparentemente permite lograr una resistencia de unión similar a la de la dentina normal.

El ácido fosfórico al 35-37% es el agente acondicionador disponible comercialmente que permite lograr mayor profundidad de desmineralización en la dentina normal cuando se compara al acondicionamiento ácido con ácidos más débiles como el poliacrílico, maleico y cítrico<sup>5,33,34</sup>. Entretanto, existe la posibilidad de que los monómeros resinosos no se difundan en la dentina desmineralizada en toda su profundidad, exponiendo así a las fibras colágenas, que son susceptibles a la hidrólisis y degradación, lo que debilita la unión adhesiva, debido a la gran profundidad de desmineralización causada por el ácido fosfórico al 37%<sup>14,15,18,25,46</sup>. Así, se cree que una desmineralización con mínima profundidad podría permitir que el sistema adhesivo se difundiera por toda la extensión de la red de fibras colágenas, sin causar exceso de humedad, evitando así la degradación de estas fibras<sup>6,15,42,43</sup>.

Algunos autores sugieren estandarizar en 15s el uso del ácido fosfórico en la dentina normal, con el objetivo de evitar la degradación colágena, debido a la formación de la zona de fragilidad<sup>47,48</sup>. Sin embargo, Perdigão *et al.*<sup>48</sup>, al medir la profundidad de desmineralización con varios tiempos de acondicionamiento con ácido fosfórico de la misma concentración, probaron que esta profundidad de desmineralización no aumenta en la misma proporción que el tiempo de acondicionamiento, o sea que, duplicar el tiempo de acondicionamiento ácido no quiere decir que la dentina se desmineralizará el doble de la profundidad (capacidad tampón del tejido).

El aumento de la profundidad de desmineralización dentinaria incluso disminuye la posibilidad de que el sistema adhesivo penetre en toda la extensión desmineralizada, lo que dejaría una zona de colágeno desprotegido. Una discrepancia entre la profundidad de acondicionamiento y la capacidad de penetración del sistema adhesivo podría tornar susceptible a la nanofiltración a la zona rica en colágeno debajo de la capa híbrida, y cuanto mayor sea el tiempo de acondicionamiento, mayor será el grado de nanofiltración<sup>49,50</sup>.

Otro factor que interfiere en la hibridización de la dentina acondi-

cionada y, consecuentemente, en la calidad de la adhesión, es la humedad del sustrato que debe ser específica para el tipo de adhesivo empleado<sup>51,52</sup>. Los solventes a base de agua rehumedecen la superficie, evitando el colapso de las fibras colágenas<sup>36, 38, 48, 53</sup>.

De acuerdo con Van Meerbeek *et al.*<sup>38</sup>, el agua presente en los adhesivos puede tornarlos menos sensibles a la cantidad de humedad presente en la dentina. La presencia de agua, oriunda tanto del flujo pulpar como del propio adhesivo, evita el colapso del colágeno<sup>15,53</sup> manteniendo los espacios microscópicos entre la red de fibras colágenas. Sin embargo, el agua unida y no unida puede desempeñar un papel crucial en la hidrólisis longitudinal, que culmina en la falla restauradora. Además, el exceso de agua puede producir la separación de fases del adhesivo, comprometiendo el grado de conversión de los monómeros<sup>14,15,33,43</sup>.

Así, en las de gran profundidad se requiere protocolos de acondicionamiento con menor profundidad de desmineralización dentinaria. Varios estudios observaron un aumento de la resistencia de unión a la dentina cuando se acondiciona con ácido cítrico al 10% asociado con cloruro férrico 3% que cuando se compara con ácido fosfórico al 10%<sup>4,5,37,43,54</sup>. El ácido fosfórico causa una profunda desnaturalización de las fibras colágenas, que son vitales para la adhesión. Así, la mejora adhesiva se debe a la menor desnaturalización de las fibras colágenas, lo que aumenta la estabilidad conformacional (morfológica-estructural) colágena, por el uso del cloruro férrico y por la utilización de una solución ácida con mayor pH<sup>4,5,37,43,54</sup>. En la misma línea de investigación, Pashley *et al.*<sup>42</sup>, evidenciaron diferencias entre el acondicionamiento ácido tradicional versus el acondicionamiento por primers acídicos (ácido cítrico, maleico y poliacrílico) que presentan mayor pH y, en consecuencia, causan una menor profundidad de desmineralización en la dentina. Los autores enuncian desventajas derivadas del acondicionamiento ácido por ácidos fuertes en altas concentraciones, como el fosfórico: i) aumento de la permeabilidad dentinaria; ii) aumento de la humedad superficial; iii) aumento del potencial irritante a los tejidos pulpares; iv) aumento de la desnaturalización del colágeno e v) aumento de la discrepancia entre la profundidad de desmineralización y el poder de penetración adhesivo<sup>31,37,42</sup>, demostrando el potencial dañino del ácido fosfórico.

Al estudiar la influencia de la dilución de ácidos en el acondicionamiento dentinario, Chan *et al.*<sup>55</sup> observaron que los acondicionadores maleico y fosfórico más diluidos presentaron mayor resistencia adhesiva, por periodos más prolongados<sup>55</sup>. Por lo tanto, cuanto más ácido sea el agente acondicionador, mayor será la profundidad de desmineralización y, por ende, la exposición de fibras colágenas, que podrán sufrir el proceso de hidrólisis, causando filtraciones y consecuente degradación de la interfaz adhesiva<sup>4,5,37,42, 43,54</sup>.

Gonçalves<sup>56</sup>, en 2018, observó que después de la aplicación de ácido fosfórico, hubo una disminución acentuada en los grupos fosfato y carbonato de la hidroxiapatita. Cuando se comparó con el acondicionamiento realizado con ácido poliacrílico se verificó una acción menos agresiva con estos grupos, permitiendo de esta manera, una mayor disponibilidad de cristales de hidroxiapatita en la superficie colágena<sup>56-58</sup>.

Cuando los monómeros resinosos no encapsulan completamente las fibras colágenas, éstas pueden disolverse y tornarse zonas de degradación hidrolítica en la interfaz adhesiva, reduciendo



la durabilidad adhesiva por la filtración marginal<sup>9,60</sup>. Además, la exposición de la matriz extracelular del colágeno por estímulos endógenos o exógenos, como la aplicación de agentes acondicionantes, puede causar alteraciones en los mecanismos reguladores de las MMP en el sustrato dentinario<sup>61,62</sup>. Las enzimas endógenas MMP están relacionadas con la degradación colagenolítica después de su exposición<sup>63</sup>, pudiendo inducir a la hidrólisis lenta del colágeno cuando las mismas están activadas<sup>57,62,63</sup>. Algunos autores presentan hallazgos en los que el uso del ácido fosfórico induce a un mayor potencial de activación de estas MMP al compararse al ácido poliacrílico o cítrico<sup>63-67</sup>. A pesar de que esas enzimas se activan por ácidos, el colágeno puede sufrir degradación a lo largo del tiempo aún en condiciones asépticas debido a la acción de las proteasas intrínsecas presentes en la matriz, relacionadas a otros mecanismos que también pueden inducir a la activación de las mismas<sup>61</sup>.

Al analizar la actividad de las MMP y cisteíno-catepsinas mediante los diferentes protocolos de acondicionamiento ácido, total o autoacondicionante, se observó que dicha actividad fue mayor en el acondicionamiento total con el empleo del ácido fosfórico<sup>64,65,68</sup>. Las endoproteasas MMP parecen ejercer un papel fundamental en la degradación de la capa híbrida y en la reducción de la resistencia adhesiva longitudinal, además de favorecer la degradación proteolítica, afectando las propiedades mecánicas del colágeno, al inducir la degradación de la interfaz adhesiva<sup>64,65,68</sup>. El ácido fosfórico afecta significativamente la resistencia a la tracción del colágeno cuando se le compara con el ácido poliacrílico, siendo que el uso de ese ácido puede afectar no solo la expresión de las endoproteasas, sino también la calidad del colágeno que será incorporado en el futuro en la capa híbrida<sup>56,69</sup>. La adhesión dentina-resina es resultante de la filtración de los monómeros resinosos en el sustrato dentinario, y su estabilidad y durabilidad pueden ser alcanzadas por medio del encapsulado completo de las fibras colágenas por el sistema adhesivo, protegiéndose así de la degradación<sup>70,71,74,75</sup>.

Algunos autores reportaron resultados favorables al emplear el ácido poliacrílico asociado al uso de cementos autoacondicionantes obteniendo resultados favorables en términos de resistencia adhesiva<sup>58,72,73</sup>. Los principales factores asociados al deterioro de la interfaz adhesiva en la dentina son la biodegradación longitudinal de la matriz colágena y la hidrólisis del propio adhesivo<sup>59</sup>. El acondicionamiento con ácido poliacrílico mostró valores superiores en resistencia a la microtracción, sugiriendo que la desmineralización parcial de la dentina afecta positivamente el desempeño del sistema adhesivo, ya que los monómeros interactúan con la hidroxiapatita presente en la dentina por medio de interacciones iónicas favoreciendo la adhesión química<sup>76</sup>. Los resultados referentes a la degradación colagenolítica también sugieren que el ácido poliacrílico tiene menor potencial agresivo respecto a la activación de las MMP y resistencia a la tracción del colágeno<sup>75</sup>.

Existen estudios que incluso consideran el empleo del hipoclorito de sodio (5-10%) y EDTA (17%) como formas de pretratamiento dentinario, para eliminar porciones orgánicas del colágeno desnaturalizado, proteínas no colágenas y glicosaminoglicanos, que podrían interferir en el proceso de formación y estabilidad de la capa híbrida, pues representan zonas donde se facilita la difusión de agua, pudiendo contribuir con el proceso de hidrólisis de la interfaz adhesiva<sup>66,79</sup>.

A pesar de todos estos estudios y avances en la mejora de la retención adhesiva al sustrato dentinario, ninguno de ellos fue capaz de mantener la estabilidad longitudinal de la capa híbrida.

## INVESTIGACIÓN LABORATORIAL Y CLÍNICA

A lo largo de la evolución de los sistemas adhesivos han surgido muchas publicaciones tanto clínicas como laboratoriales. Es muy importante enfatizar que las investigaciones laboratoriales que estudian sistemas adhesivos utilizan frecuentemente dientes humanos extraídos (molares o premolares) por motivos ortodónticos. Este tipo de investigación deja de considerar uno de los más importantes aspectos clínicos: la presencia de dentina afectada, ya que el odontólogo clínico utilizará en su rutina las restauraciones adhesivas sobre dientes expuestos al proceso de caries, restauraciones que fracasaron o restauraciones de lesiones no cariosas con dentina esclerótica, por la continua exposición al ambiente oral<sup>6</sup>.

La ausencia de la simulación del flujo del fluido pulpar y la consecuente humedad del tejido dentinario, alejan a la investigación laboratorial de la reproducción ideal de las condiciones clínicas *in vivo*<sup>8,13,14</sup>.

Las pruebas de resistencia adhesiva, ya sea de cizallamiento, microtracción o microcizallamiento, ofrecen limitaciones inherentes a los métodos de análisis de laboratorio, consecuentemente provocando fallas restauradoras del sustrato o de la restauración de forma diferente a las observadas en la clínica.

Algunas limitaciones en las simulaciones laboratoriales son la ausencia del biofilm durante las pruebas longitudinales de degradación, que puede inducir a interpretaciones erróneas del desempeño de los materiales, y la falta de un proceso de remineralización e hidrólisis, que debe ocurrir bajo las condiciones *in vivo* de forma dinámica.

La fuerte influencia de los fabricantes en la elaboración de sus formulaciones puede influenciar la senda de las investigaciones, no siempre en consonancia con los hallazgos científicos anteriores. El abandono de los fabricantes e investigadores de la propuesta inicial de Nakabayashi, por ejemplo, de no emplear el agente fijador (cloruro férrico) durante el proceso de acondicionamiento ácido, en función de la incorporación del HEMA a las fórmulas, ciertamente trajo consecuencias a la longevidad de las restauraciones, como la hidrólisis de las fibras colágenas. Las nuevas técnicas de investigación con el empleo de agentes crosslinkers, representan un retorno a la propuesta inicial del mecanismo de hibridación. Vale resaltar también el lanzamiento de sistemas self-etch inicialmente direccionados a no tratar el esmalte dental con ácidos acondicionadores. Esto llevó a la aparición de problemas de filtración en el esmalte, ya considerados efectivos y solucionados por el acondicionamiento convencional con ácido fosfórico.

Los materiales bioactivos, en términos de remineralización de las fibras colágenas en ambientes acidificados, actualmente tienen un lugar en las investigaciones orientadas a la búsqueda de mejores desempeños longitudinales<sup>77,78</sup>.

El principal objetivo de la restauración adhesiva es promover una fuerte y duradera adaptación entre el material y los sustratos dentales de esmalte y dentina. Sin embargo, el desafío más



grande de los sistemas adhesivos es actuar con excelentes resultados sobre sustratos morfológicamente tan diferentes, el primero eminentemente mineral y el segundo orgánico con elevado contenido de humedad<sup>6,14,15</sup>.

## CONCLUSIÓN

Así, podemos concluir que el, en comparación con el el ácido fosfórico al 37%, el uso de ácidos más débiles y con concentraciones más bajas, como los ácidos poliacrílico, maleico y cítrico (o el propio fosfórico al 10%) asociados a agentes fijadores pueden representar un tipo de acondicionamiento menos agresivo para el sustrato dentinario, por causar una menor profundidad de desmineralización y consecuentemente una menor exposición de fibras colágenas que podrían ser susceptibles a la hidrólisis, cuando no son incorporador por los monómeros adhesivos.

El ácido fosfórico al 37% parece generar mayor posibilidad de hidrólisis de la interfaz adhesiva, ya sea por activar más a las MMP en relación a los agentes acondicionantes con pH más alto, o por la mayor exposición de la red colágena. Entretanto, la mejor opción de acondicionamiento para la dentina sana, parece ser con sistemas adhesivos que posean monómeros funcionales en su composición, debido a la baja profundidad de desmineralización, menor activación de MMP, posibilidad de unión química al sustrato, además de mejores resultados en resistencia adhesiva longitudinal.

Las lesiones cervicales no cariosas representan el sustrato más desafiante y ofrecen los resultados más imprevisibles de adhesión longitudinal.

La adhesión al esmalte solamente es efectiva con el acondicionamiento con ácido fosfórico al 37% de forma convencional.

Los adhesivos simplificados generalmente ofrecen resultados de resistencia adhesiva inferiores a los de frascos separados, principalmente aquellos que no ofrecen una capa hidrófuga externa.

Los resultados in vitro no pueden ser directamente extrapolados a situaciones in vivo.

No existen evidencias científicas que apoyen el uso de inhibidores de MMP en la rutina del protocolo adhesivo.

El profesional debe tener en mente que la disponibilidad comercial aliada a la vasta literatura científica que trata de estos sistemas ayuda a la selección de esta modalidad de tratamiento superficial dentinario, que obviamente debe variar de acuerdo con las características fisiológicas y patológicas del tejido dentinario en cuestión.

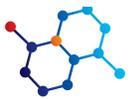
### **Traducción del Portugués al español:**

Dra. Natalia Henostroza Quintans.



## REFERENCIAS

1. Buonocore MG. A Simple Method of Increasing the Adhesion of Acrylic Filling Materials to Enamel Surfaces. *J Dent Res.* 1955 Dec 9;34(6):849-53.
2. Retief DH. Are adhesive techniques sufficient to prevent micro-leakage? *Oper Dent.* 1987;12(4):140-5.
3. Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res.* 1979 Apr 9;58(4):1364-70.
4. Nakabayashi N. Adhesive bonding with 4-META. *Oper Dent.* 1992;Suppl 5:125-30.
5. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982 May;16(3):265-73.
6. Perdigão J. Current perspectives on dental adhesion: (1) Dentin adhesion – not there yet. *Jap Dent Sci Review,* 2020; 56(1): 190 – 207.
7. Gonçalves SE, de Araujo MA, Damião AJ. Dentin bond strength: influence of laser irradiation, acid etching, and hypermineralization. *J Clin Laser Med Surg.* 1999;17(2):77-85.
8. Silva TM, Gonçalves LL, Fonseca BM, Esteves SR, Barcellos DC, Damião AJ, Gonçalves SE. Influence of Nd:YAG laser on intrapulpal temperature and bond strength of human dentin under simulated pulpal pressure. *Lasers Med Sci.* 2016 Jan;31(1):49-56.
9. Marimoto AK, Cunha LA, Yui KC, Huhtala MF, Barcellos DC, Prakki A, Gonçalves SE. Influence of Nd:YAG laser on the bond strength of self-etching and conventional adhesive systems to dental hard tissues. *Oper Dent.* 2013 Jul-Aug;38(4):447-55.
10. Barcellos DC, Fonseca BM, Pucci CR, Cavalcanti Bd, Persici Ede S, Gonçalves SE. Zn-doped etch-and-rinse model dentin adhesives: Dentin bond integrity, biocompatibility, and properties. *Dent Mater.* 2016 Jul;32(7):940-50.
11. Gonçalves SE, Cruz N, Brayner R, Huhtala MF, Borges AB, Barcellos DC. Grandeur system: A new technology to reduce surface tension of adhesive systems in dentistry. *Acta Odont Scan* 2014; 72: 31 - 35.
12. Fonseca BM, Barcellos DC, Silva TMD, Borges ALS, Cavalcanti BDN, Prakki A, Oliveira HPM, Gonçalves SEP. Mechanical-physicochemical properties and biocompatibility of catechin-incorporated adhesive resins. *J Appl Oral Sci.* 2019 Jan 7;27:e20180111.
13. Haddad BA, Silva TM, Gonçalves LL, Silva MR, Junior CM, Santis LR, SEP. Analysis of adhesive bond strength under simulated pulpal pressure on different dentin thicknesses. *Braz Dent Sci.* 2020; 23 (1): 1-7.
14. Spencer P, Ye Q, Park J, Misra A, Bohaty BS, Singh V, Parthasarathy R, Sene F, Gonçalves SEP, Laurence J. Durable bonds at the adhesive/dentin interface: an impossible mission or simply a moving target? *Braz Dent. Sci* 2012; 15:4-18.
15. Van Meerbeek B, Yoshihara K, van Landuyt K, Yoshida Y, Peumans M. From Buonocore's Pioneering Acid-Etch Technique to Self-Adhering Restoratives. A Status Perspective of Rapidly Advancing Dental Adhesive Technology. *J Adhes Dent.* 2020;22(1):7-34.
16. Bowen RL. Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues. II. Bonding to dentin promoted by a surface-active comonomer. *J Dent Res.* 1965 Sep-Oct;44(5):895-902.
17. Bowen RL. Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues. 3. Bonding to dentin improved by pre-treatment and the use of surface-active comonomer. *J Dent Res.* 1965; 44(5):903-5.
18. Bispo LB. Sistemas adesivos: evolução e perspectivas revisão de literatura. *Rev Bahiana Odont.* 2016 Dez;7(4):286-296
19. Loguercio AD, Muñoz MA, Luque-Martinez I, Hass V, Reis A, Perdigão J. Does active application of universal adhesives to enamel in self-etch mode improve their performance? *J Dent.* 2015;43(9):1060-70.
20. 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.
21. Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. *Oper Dent.* 1994 Mar-Apr;19(2):59-64.
22. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent.* 1995 Jan-Feb;20(1):18-25.
23. Sano H, Yoshiyama M, Ebisu S, Burrow MF, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, Pashley DH. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. *Oper Dent.* 1995 Jul-Aug;20(4):160-7.
24. Augusto MG, Dantas DCB, de Andrade GS, Matuda AGN, Lopes SR, Barcellos DC, Pucci CR. Scanning electron microscopy comparison of the resin-dentin interface using different specimen preparation methods. *Microsc Res Tech.* 2020;83(8):945-948.
25. Barcellos DC, Batista GR, Silva MA, Pleffken PR, Rangel PM, Fernandes VV Jr, Di Nicoló R, Torres CR. Two-year clinical performance of self-etching adhesive systems in composite restorations of anterior teeth. *Oper Dent.* 2013;38(3):258-66.
26. Yoshida Y, Yoshihara K, Nagaoka N, Hayakawa S, Torii Y, Ogawa T, Osaka A, Meerbeek BV. Self-assembled nano-layering at the adhesive interface. *J Dent Res.* 2012 Apr;91(4):376-81.
27. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res.* 2004 Jun;83(6):454-8.
28. 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 Jan;27(1):17-28.
29. Chen C, Niu LN, Xie H, Zhang ZY, Zhou LQ, Jiao K, Chen JH, Pashley DH, Tay FR. Bonding of universal adhesives to dentine--Old wine in new bottles? *J Dent.* 2015 May;43(5):525-36.
30. Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Dent.* 3(4):133-8.
31. Prati C, Chersoni S, Mongiorgi R, Montanari G, Pashley DH. Thickness and morphology of resin-infiltrated dentin layer in young, old, and sclerotic dentin. *Oper Dent.* 24(2):66-72.
32. Tagami J, Tao L, Pashley DH. Correlation among dentin depth, permeability, and bond strength of adhesive resins. *Dent Mater.* 1990 Jan;6(1):45-50.
33. Burrow MF, Takakura H, Nakajima M, Inai N, Tagami J, Takatsu T. The influence of age and depth of dentin on bonding. *Dent Mater.* 1994 Jul;10(4):241-6.
34. 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 Aug;71(8):1530-40.
35. Nakabayashi N, Takarada K. Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent Mater.* 1992 Mar;8(2):125-30.
36. Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. *J Dent Res.* 1994 Jun;73(6):1212-20.
37. Kwong SM, Tay FR, Yip HK, Kei LH, Pashley DH. An ultrastruc-



tural study of the application of dentine adhesives to acid-conditioned sclerotic dentine. *J Dent.* 2000 Sep;28(7):515–28.

**38.** Van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological characterization of the interface between resin and sclerotic dentine. *J Dent.* 1994 Jun;22(3):141–6.

**39.** Harnirattisai C, Inokoshi S, Shimada Y, Hosoda H. Interfacial morphology of an adhesive composite resin and etched caries-affected dentin. *Oper Dent.* 17(6):222–8.

**40.** Kurosaki N, Kubota M, Yamamoto Y, Fusayama T. The effect of etching on the dentin of the clinical cavity floor. *Quintessence Int.* 1990 Feb;21(2):87–92.

**41.** Lee HL, Orlowski JA, Scheidt GC, Lee JR. Effects of acid etchants on dentin. *J Dent Res.* 1973 52(6):1228–33.

**42.** Pashley DH, Horner JA, Brewer PD. Interactions of conditioners on the dentin surface. *Oper Dent.* 1992;Suppl 5:137–50.

**43.** Marshall GW, Inai N, Wu-Magidi IC, Balooch M, Kinney JH, Tagami J, et al. Dentin demineralization: effects of dentin depth, pH and different acids. *Dent Mater.* 1997 Nov;13(6):338–43.

**44.** 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 Feb;32(2):e41-53.

**45.** Harnirattisai C, Inokoshi S, Shimada Y, Hosoda H. Adhesive interface between resin and etched dentin of cervical erosion/abrasion lesions. *Oper Dent.* 18(4):138–43.

**46.** Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. Resin-tooth adhesive interfaces after long-term function. *Am J Dent.* 2001 Aug;14(4):211–5.

**47.** Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. *Biomaterials.* 2005 Mar;26(9):1035–42.

**48.** Perdigão J, Lopes M. The effect of etching time on dentin demineralization. *Quintessence Int.* 2001;32(1):19–26.

**49.** Dörfer CE, Staehle HJ, Wurst MW, Duschner H, Pioch T. The nanoleakage phenomenon: influence of different dentin bonding agents, thermocycling and etching time. *Eur J Oral Sci.* 2000 Aug;108(4):346–51.

**50.** Paul SJ, Welter DA, Ghazi M, Pashley D. Nanoleakage at the dentin adhesive interface vs microtensile bond strength. *Oper Dent.* 24(3):181–8.

**51.** Jacobsen T, Söderholm KJ. Effect of primer solvent, primer agitation, and dentin dryness on shear bond strength to dentin. *Am J Dent.* 1998 Oct;11(5):225–8.

**52.** Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Hashimoto M, Peumans M, Lambrechts P, et al. Technique-sensitivity of contemporary adhesives. *Dent Mater J.* 2005;24(1):1–13.

**53.** Perdigão J, Van Meerbeek B, Lopes MM, Ambrose WW. The effect of a re-wetting agent on dentin bonding. *Dent Mater.* 1999 Jul;15(4):282–95.

**54.** Nakabayashi N, Ashizawa M, Nakamura M. Identification of a resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo: durable bonding to vital dentin. *Quintessence Int.* 1992 Feb;23(2):135–41.

**55.** Chan AR, Tittley KC, Chermack R, Smith DC. A short- and long-term shear bond strength study using acids of varying dilutions on bovine dentine. *J Dent.* 1997 Mar;25(2):145–52.

**56.** Gonçalves LL. Sistema adesivo universal: análise da interface adesiva e degradação colagenolítica em dentina submetida à diferentes protocolos de condicionamento ácido [Tese Doutorado]. São

José dos Campos: Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp); 2018.

**57.** 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 B Appl Biomater.* 2012 May;100(4):1009–16.

**58.** Sylvester MF, Yannas I V, Salzman EW, Forbes MJ. Collagen banded fibril structure and the collagen-platelet reaction. *Thromb Res.* 1989 Jul 1;55(1):135–48.

**59.** Van Strijp AJP, Jansen DC, DeGroot J, ten Cate JM, Everts V. Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ. *Caries Res.* 1993;37(1):58–65.

**60.** Koshiro K, Inoue S, Tanaka T, Koase K, Fujita M, Hashimoto M, et al. In vivo degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system. *Eur J Oral Sci.* 2004 Aug;112(4):368–75.

**61.** 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 Mar;83(3):216–21.

**62.** 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 Sep;27(25):4470–6.

**63.** Nascimento FD, Minciotti CL, Geraldini S, Carrilho MR, Pashley DH, Tay FR, et al. Cysteine cathepsins in human carious dentin. *J Dent Res.* 2011 Apr;90(4):506–11.

**64.** 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 May;86(5):436–40.

**65.** Mazzoni A, Nascimento FD, Carrilho M, Tersariol I, Papa V, Tjäderhane L, et al. MMP Activity in the Hybrid Layer Detected with in situ Zymography. *J Dent Res.* 2012 May 21;91(5):467–72.

**66.** Esteves SRMS, Huhtala MFRL, Gomes APM, Ye Q, Spencer P, Gonçalves SEP. Longitudinal Effect of Surface Treatments Modified by NaOCl-Induced Deproteinization and Nd:YAG Laser on Dentin Permeability. *Photomed Laser Surg.* 2016 Feb;34(2):68-75.

**67.** 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 Dec;88(12):1101–6.

**68.** 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 Jan;92(1):82–6.

**69.** Hu L, Xiao Y, Fang M, Gao Y, Huang L, Jia A, 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;10(2):e0116790.

**70.** Tekçe N, Tuncer S, Demirci M, Balci S. Do matrix metalloproteinase inhibitors improve the bond durability of universal dental adhesives? *Scanning.* 2016 Nov;38(6):535–44.

**71.** Marchesi G, Frassetto A, Mazzoni A, Apolonio F, Diolosa M, Cadenaro M, et al. Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-year in vitro study. *J Dent.* 2014 May;42(5):603–12.

**72.** Stona P, Borges GA, Montes MA, Júnior LH, Weber JB, Spohr AM. Effect of polyacrylic acid on the interface and bond strength of self-adhesive resin cements to dentin. *J Adhes Dent.* 2013 Jun;15(3):221–7.

**73.** 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 Oct;104(4):258–64.



74. Sezinando A, Serrano ML, Pérez VM, Muñoz RAG, Ceballos L, Perdigão J. Chemical Adhesion of Polyalkenoate-based Adhesives to Hydroxyapatite. *J Adhes Dent*. 2016;18(3):257–65
75. 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 Aug;31(8):901–6.
76. 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 Jun 8;80(6):1565–9.
77. Ubaldini ALM, Pascotto RC, Sato F, Soares VO, Baesso ML. Mechanical and Chemical Changes in the Adhesive-Dentin Interface after Remineralization. *J Adhes Dent* 2020;22(3):297-309.
78. Bonnafous F, Krejci I, Bortolotto T. Coating of enamel and dentin with bioactive materials: Effect on adhesive interface of class V restorations. *Am J Dent* 2019 Dec;32(6):281-287.
79. Bertassoni LE, Orgel JPR, Antipova O, Swain MV. The dentin organic matrix – limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. *Acta Biomaterialia* 2012 Jul;8(7):2419-33.