

Metaloproteinazy i ich udział w degradacji systemów wiążących. Część 2

¹Zakład Stomatologii Zachowawczej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Kierownik Zakładu: dr hab. n. med. Agnieszka Mielczarek

²Praktyka prywatna: Klinika Radość, Warszawa

Kierownik Kliniki: lek. dent. Barbara Sobczak

SŁOWA KLUCZOWE

próchnica zębiny, warstwa hybrydowa, metaloproteinazy (MMPs), katepsyny cysteinowe, inhibitory metaloproteinaz

STRESZCZENIE

Stabilność warstwy hybrydowej jest kluczowa dla zapewnienia trwałości wypełnień z materiałów złożonych. Czynniki osłabiające siłę wiązania związane są m.in. z obecnością bakterii i ich enzymów w strukturze biofilmu bakteryjnego. Chroniczne uszkodzanie warstwy hybrydowej zachodzi także w wyniku hydrolizy i wypłukiwania monomerów adhezyjnych, które infiltrowały zdemineralizowaną matrycę zębiny. Do czynników sprzyjających degradacji zalicza się również nanoprzeciek. Bardzo wiele badań analizuje wpływ endogennych proteaz na degradację warstwy hybrydowej. Endogenne enzymy kolagenolityczne: metaloproteinazy (MMPs) i katepsyny cysteinowe, są odpowiedzialne za degradację matrycy kolagenowej w warstwie hybrydowej. Inhibicja endogennych proteaz jest zatem konieczna dla spowolnienia degradacji wypełnień. Aktywność enzymów w zębinie i warstwie hybrydowej może być regulowana przez endo- i egzogenne inhibitory.

Praca stanowi przegląd dostępnego piśmiennictwa opublikowanego w bazie medycznej PubMed i w polskich czasopismach stomatologicznych w latach 2002-2017. Jej celem jest ocena roli metaloproteinaz i katepsyn cysteinowych w degradacji warstwy hybrydowej i przegląd związków o działaniu inhibitoryjnym w stosunku do tych grup enzymów.

Wykonanie rekonstrukcji twardych tkanek zęba o długim okresie klinicznego użytkowania jest miarą sukcesu w stomatologii odtwórczej. W chwili obecnej największą uwagę przykładą się do powierzchni adhezyjnej łączącej tkanki zęba z wypełnieniem. Obserwuje się bowiem stopniową degradację tej strefy w miarę funkcjonowania odbudowy. Odsłonięcie kolagenu na skutek wytrawiania zębiny lub aplikacji samotrawiących primerów usuwa bądź modyfikuje mineralną fazę zębiny. Odsłonięta macierz jest impregnowana następnie monomerami adhezyjnymi, co prowadzi do powstania warstwy hybrydowej. Stabilność polimerów żywicy i odsłoniętego kolagenu jest kluczowa dla trwałości połączenia zębiny i materiału łączącego. Degradacja obu tych części osłabia adhezję i prowadzi do powstania mikro-szczeliny pomiędzy zębem a materiałem wypełnieniowym, która może ulec penetracji przez florę bakteryjną (1).

Czynniki osłabiające siłę wiązania związane są m.in. z obecnością bakterii i ich enzymów w strukturze biofilmu bakteryjnego. Udowodniono, że *Streptococcus mutans*

posiada zdolność uwalniania specyficznych enzymów – esteraż, które przyczyniają się do degradacji żywic z materiałów złożonych i systemów łączących (2).

Chroniczne uszkodzanie warstwy hybrydowej zachodzi również w wyniku hydrolizy i wypłukiwania monomerów adhezyjnych, które infiltrowały zdemineralizowaną matrycę zębiny. Wypłukiwanie ułatwia sorpcja wody i jej penetracja przez strefę luźnych włókien kolagenowych lub hydrofilnych domen systemów wiążących. Mechaniczne zużycie wypełnienia może dalej przyspieszać degradację tego połączenia poprzez starcie jego powierzchni i zwiększenie pola penetracji enzymów i wody. Degradacja hydrolityczna jest uważana za główną przyczynę uszkodzenia warstwy hybrydowej, prowadzącą do redukcji siły wiązania w czasie (3).

Za kolejny czynnik sprzyjający degradacji warstwy hybrydowej uważa się nanoprzeciek – przenikanie małych jonów i cząsteczek do warstwy hybrydowej przy widocznym braku stref jej uszkodzenia. Nanoprzeciek powstaje na skutek zaburzonego balansu pomiędzy tempem demineralizacji

zębiny a poziomem jej infiltracji systemami wiążącymi. Zjawisko to obserwuje się zarówno w przypadku systemów, w których tkanki są trawione w trakcie odrębnej procedury, jak i przy stosowaniu systemów samotrawiących. Oba warianty nie zapewniają wystarczającego wysycenia sieci kolagenowej i powodują powstanie warstwy hybrydowej o niejednorodnej, zróżnicowanej grubości (4).

Brak wysycenia sieci kolagenowej systemem wiążącym sprzyja powstawaniu zjawiska degradacji włókien kolagenowych. Włókna, które nie zostały zinfiltrowane, ulegają zniszczeniu na skutek utraty żywicy z przestrzeni między włóknami i ich dezorganizacji. Stopień degradacji może różnić się w zależności od stosowanego systemu wiążącego (3).

Coraz więcej badań analizuje wpływ endogennych proteaz na degradację warstwy hybrydowej. Doniesienia te mają istotne implikacje kliniczne. W proces degradacji zaangażowane są endogenne metaloproteiny, m.in. MMP-9. Uzyskanie hydrolitycznej aktywności MMPs wymaga obecności wody. W wilgotnych warunkach MMPs hydrolizują wiązania peptydowe, co powoduje degradację połączenia zębiny z żywicą (5-8).

Pashley i wsp. (9) badali działanie enzymów proteolitycznych na zdemineralizowaną zębinę przechowywaną w wodzie, sztucznej ślinie i oleju oraz ocenili rolę inhibitorów enzymów proteolitycznych w ochronie zdemineralizowanego kolagenu matrycy. Uzyskane wyniki sugerują, że degradacja hydrolityczna włókien kolagenowych występuje przy absencji bakterii. Zdaniem autorów, metaloproteiny ze zmineralizowanej matrycy zębiny mogą ulec aktywacji w trakcie wytrawiania bądź udatniania zębiny i są prawdopodobnie odpowiedzialne za degradację warstwy hybrydowej w środowisku wodnym.

Po potwierdzeniu obecności i działania endogennych metaloprotein w zębinie, dokonano oceny aktywności tych enzymów w strefie warstwy hybrydowej (10). Udowodniono, że wewnątrz warstwy hybrydowej występują aktywne enzymy proteolityczne. Ich aktywność rejestrowana była w strefie dna warstwy hybrydowej, co koreluje z obecnością pól zdemineralizowanego, ale nieprzesyczonego systemem wiążącym kolagenu. Interesujące wydaje się to, że obszary odsłoniętego kolagenu spotykane były w rejonie występowania nanoporów w warstwie hybrydowej i stanowiły podłoże jej postępujących w czasie uszkodzeń.

Udowodniono, że w zębinie traktowanej zarówno izolowanym wytrawiaczem, jak i systemami samotrawiącymi dochodzi do sekrecji enzymów MMP-2 i MMP-9. Działanie tych metaloprotein może być intensyfikowane na skutek utraty inhibicyjnych zdolności cząsteczek TIMP – głównych naturalnych inhibitorów MMPs obecnych w tkankach zęba. Te endogenne związki łącząc się z cząsteczkami metaloprotein, hamują ich aktywność, a zachowanie równowagi między nimi i MMPs jest kluczowe dla zapewnienia stabilności zdrowych tkanek zęba (10, 11). TIMPs kontrolują

metaloproteiny na dwa sposoby – przez hamowanie etapu przemiany proenzymu w enzym oraz przez hamowanie aktywności MMPs.

Dotychczas poznano cztery rodzaje TIMPs (TIMP-1, -2, -3, -4), które posiadają zdolność tworzenia kompleksów enzym-inhibitor. TIMPs zbudowane są z dwóch podjednostek: N-końcowej i C-końcowej. Wszystkie inhibitory TIMP hamują metaloproteiny. W warunkach fizjologicznych, przy niskich stężeniach MMPs, z reguły nieaktywnych, układ MMP-TIMP działa niezawodnie i bierze udział w modelowaniu tkanek. W stanach patologicznych tkankowe inhibitory nie są w stanie zahamować aktywności podwyższonego miana czynnych MMPs (6, 12, 13).

W procesie degradacji systemów wiążących znaczącą rolę odgrywają również katepsyny. Obniżenie pH środowiska jamy ustnej, indukowane przez stosowanie procedur mających na celu wytworzenie adhezji, stwarza warunki do aktywacji tych enzymów. Badania wykazały potencjalną korelację między działaniem metaloprotein i katepsyn zarówno w zdrowej, jak i zdemineralizowanej tkance (3, 14, 15). Aplikacja kwasowych monomerów aktywuje bowiem zarówno metaloproteiny, jak i katepsyny. Katepsyny cysteinowe stanowią ważną grupę enzymów proteolitycznych obecnych w zębinie. Ich różnorodność porównywalna jest z liczbą obecnych metaloprotein. Katepsyny wykazują zdolność do degradacji macierzy zębiny na drodze fizjologicznej i patologicznej. Odgrywają również rolę w przebiegu postępu próchnicy, chorób dziąseł i przyzębia oraz są odpowiedzialne za występowanie stopniowej utraty szczelności rekonstrukcji adhezyjnych. Zaobserwowano, że katepsyny posiadają różny potencjał degradacji w zależności od obszaru zainfekowanej zębiny, lokalizacji zmiany próchnicowej i jej aktywności. Poziom tych enzymów wzrasta znacząco w ubytkach głębokich, zlokalizowanych w pobliżu miazgi zęba, co wskazuje na fakt, że katepsyny pochodzenia zębinowego lub miazgowego odgrywają kluczową rolę w postępie aktywnych zmian próchnicowych i w degradacji warstwy hybrydowej. Ich aktywacja odbywa się na drodze autoaktywacji, przy obniżonym pH. W warunkach neutralnych pozostają nieaktywne – w odróżnieniu od MMPs, które największą aktywność wykazują przy pH obojętnym (3, 14-17).

W świetle powyższych rozważań kluczowe wydaje się zapewnienie integralności matrycy kolagenowej poprzez inhibicję endogennych proteaz. Działanie to może zwiększyć trwałość połączenia zębina-system wiążący oraz zapewnić długotrwałe utrzymanie wypełnień z materiałów złożonych, a tym samym zahamować rozwój próchnicy wtórnej. Podejrzenie występowania próchnicy wtórnej jest najczęstszą przyczyną wymiany wypełnień. Stąd, w rozważaniach naukowych wiele uwagi poświęca się zjawisku profilaktyki powstawania próchnicy wtórnej i możliwości remineralizacji zębiny próchnicowej. Trwają poszukiwania nowoczesnych strategii leczenia zmian próchnicowych, które uwzględniają wzmocnienie struktury zębiny oraz promują stosowanie

inhibitorów metaloproteinaz. Aktywność MMPs w zębieniu i warstwie hybrydowej może być regulowana przez inhibitory endo- i egzogenne. Związki endogenne pozyskiwane są z ludzkich komórek pochodzących z innych narządów, a egzogenne syntetyzowane są sztucznie (1).

Głównym kierunkiem badań związanych z hamowaniem metaloproteinaz i poprawą stabilności systemów wiążących jest użycie chlorheksydyny (CHX). Jest ona zwykle składnikiem płynów do płukania stosowanych w endodoncji w celu eliminacji drobnoustrojów, w tym *E. faecalis*. CHX efektywnie neutralizuje również działanie MMP-2, -9 i -8 oraz katepsyn cysteinowych (3, 18, 19). Pashley i wsp. potwierdzili jej efektywność w hamowaniu kolagenolitycznej aktywności enzymów (9). Wykazano również, że chlorheksydyna może poprawiać stabilność struktury warstwy hybrydowej i redukować zależny od czasu spadek siły wiązania systemów wiążących zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* (3, 18, 19).

MMPs to enzymy zależne od obecności jonów wapnia lub cynku. Stopień hamującego działania CHX w stosunku do MMPs może być modyfikowany przez jej zdolności chelatujące, a jony wapnia uwalniane przez primery mogą być odpowiedzialne za spadek jej aktywności na przestrzeni czasu (3, 18).

Wprowadzenie CHX w niskich stężeniach (0,2-2,0%) do związków zawierających metakrylany nie zmienia stopnia sorpcji wody, a nawet nieznacznie podwyższa odporność na zgęcie i poziom modułu elastyczności związków adhezyjnych biorących udział w tworzeniu warstwy hybrydowej (20). Stopień uwalniania CHX ze spolimeryzowanych systemów wiążących zależy od jej stężenia i utrzymuje się na stabilnym poziomie (21). Idea inkorporacji inhibitorów do systemów wiążących w celu spowolnienia degradacji kolagenu daje obiecujące wyniki. Przeprowadzono badania *in vitro*, które wskazują, że aplikacja CHX na powierzchnię szkliwa i zębiny wytrawionych kwasem fosforowym nie zmniejsza siły wiązania systemu wiążącego po 24 godzinach (22). Carrilho i wsp. zbadali próbki zębiny po aplikacji dwuetapowego systemu E&R Single Bond, 3M Espe. W próbkach kontrolnych degradacja na dnie warstwy hybrydowej po 6 miesiącach wzrosła znacznie w porównaniu do próbek traktowanych roztworem CHX. Doniesienia te potwierdzają, że najstabszym elementem w warstwie hybrydowej są obszary częściowo obnażonego kolagenu na dnie lub poniżej warstwy hybrydowej, gdzie włókna kolagenowe nie mają zapewnionej odpowiedniej infiltracji przez żywicę adhezyjną i ochrony przed degradacją. Użycie CHX eliminuje lub zwalnia tempo degradacji kolagenu. Istnieje jednak konieczność kontynuacji badań w tym zakresie w celu opracowania standardów postępowania klinicznego (23).

Kolejnym syntetycznym inhibitorem metaloproteinaz jest galdardyna (3, 18). Wykazuje ona silną aktywność przeciwko MMP-1, -2, -8 i -9. Ma strukturę przypominającą kolagen i łączy się z aktywną częścią enzymu. Wykazuje działanie hamujące aktywność proteolityczną przy stężeniach 10-100 razy

niższych niż CHX. Włączenie cząsteczki galdardyny do składu primera zaowocowało w badaniach inhibicją aktywności MMPs oraz poprawą siły wiązania systemu wiążącego z tkankami zęba bezpośrednio po jego aplikacji. Po trzymiesięcznym okresie obserwacji nie odnotowano jednak różnic w stopniu degradacji związków adhezyjnych w porównaniu z próbkami kontrolnymi (1, 3, 22).

W piśmiennictwie pojawiają się również doniesienia dotyczące roli EDTA w hamowaniu aktywności metaloproteinaz. Jego działanie polega na wiązaniu jonów wapnia i cynku. Dodatkowo, EDTA jako kwas wykazuje działanie trawiące. Sugerowano, że jego użycie może skutkować tworzeniem warstwy hybrydowej odpornej na degradację. Ograniczeniem jego stosowania jest czas potrzebny do uzyskania efektu wytrawienia i potwierdzone w badaniach szybkie wypłukiwanie EDTA z zębiny, a tym samym zatrzymanie hamującego wpływu na MMPs (3, 18).

Kolejnym potencjalnym związkiem inhibicyjnym są tetracykliny – rodzina antybiotyków o szerokim spektrum działania, wykazująca właściwości chelatujące. Do tej grupy inhibitorów zalicza się tetracyklinę i jej półsyntetyczne analogi – doksycyklinę i minocyklinę. Oprócz wiązania jonów cynku i wapnia wspomniane chemioterapeutyki mogą również wpływać na ekspresję mRNA metaloproteinaz. Szczególne właściwości hamujące wobec MMPs wykazuje doksycyklina. Wśród syntetycznych inhibitorów dobrym efektem cechuje się chemicznie modyfikowana tetracyklina (CMTs), ale nie wykazuje ona działania przeciwbakteryjnego. Mechanizm działania tego związku polega na hamowaniu sekrecji i aktywności enzymu, jak również wiązaniu jonów wapnia. Efekt działania tej grupy inhibitorów na trwałość warstwy hybrydowej wymaga jednak dalszych badań. Istnieje bowiem ryzyko, że te potencjalnie silne inhibitory MMPs przyczynią się do przebarwienia tkanek zęba. Brak możliwości wyeliminowania tego problemu może ograniczyć możliwość klinicznego zastosowania cząsteczek z grupy tetracyklin w materiałach do estetycznej odbudowy zębów (3).

Kolejną grupą inhibitorów proteaz są bifosfoniany, które działają w oparciu o zjawisko chelacji jonów wapnia i cynku. Ta grupa inhibitorów jest obecnie najmniej poznana i wymaga dalszych szczegółowych badań (3). Ostatnie doniesienia sugerują, że bifosfoniany łączą się z wiązaniami elektrostatycznymi z kolagenem, podobnie jak chlorheksydyna. Przypuszcza się, że ich użycie może być bardziej korzystne niż aplikacja CHX ze względu na występowanie zjawiska „zatrzasknięcia” cząsteczki bifosfonianu w matrycy kolagenu (3, 24). Zjawisko to mogłoby zapewnić przedłużenie trwałości połączenia zębina-system wiążący.

Problem wypłukiwania aktywnych związków i jonów z warstwy hybrydowej wraz z upływem czasu skłonił badaczy do oceny czynników krzyżowych wiążących się z kolagenem. Są to cząsteczki zawierające jedno lub więcej reaktywnych zakończeń zdolnych do chemicznego przyłączania się do specyficznych grup protein lub innych struktur.

Ich potencjał wiąże się z możliwością mechanicznego wzmocnienia struktury sieci kolagenowej, co poprawia wytrzymałość na degradację enzymatyczną i inaktywuje odsłonięte metaloproteiny związane z kolagenem. Udowodniono skuteczność tych związków w chemicznej i fizycznej modyfikacji kolagenu zębiny, ale nadal wymagają one dalszych badań, zanim znajdą zastosowanie w praktyce klinicznej (3, 11, 14).

Kolejnymi substancjami o działaniu inhibitoryjnym są czwartorzędowe związki amonowe (QAMs). Sole tych substancji stabilizują pH i wykazują efektywne działanie przeciwbakteryjne. Podobnie do CHX, są to kationowe związki rozpuszczalne w wodzie, ale w odróżnieniu od CHX nie ulegają wypłukaniu z powierzchni adhezyjnych. QAMs hamują działanie MMP-9, są bardziej efektywne niż galardyna w hamowaniu degradacji zdemineralizowanego kolagenu (25). Ze względu na swoje przeciwbakteryjne właściwości, czwartorzędowe związki amonowe, a szczególnie MDPB (12-metakrylo-bromek oksydecylpirydyny), inkorporowane są do składu samotrąwiających systemów wiążących. Mają zdolność łączenia się z cząsteczkami monomerów adhezyjnych. Badania *in vitro* i *in vivo* wskazują, że związki QAMs hamują enzymy kolagenolityczne w warstwie hybrydowej (26, 27). Inhibitoryjne działanie MDPB wobec metaloproteinaz może przyczyniać się do poprawienia trwałości wypełnień. MDPB jako kopolimer z metakrylanami z żywic utrzymuje inhibitoryjne działanie w stosunku do MMPs mimo upływu czasu. Efekt inhibicji wykorzystany został do zablokowania uwalniania produktów degradacji kolagenu, w tym krzyżowych telopetydów z kolagenu typu I, C-terminalnych krzyżowych cząsteczek kolagenu typu I czy katepsyn. Spośród ocenionych dotąd inhibitorów MMPs, 12-metakrylo-bromek oksydecylpirydyny wykazuje najlepszą efektywność działania (3). Mimo iż dokładny mechanizm działania QAMs w inhibicji MMPs nie jest do końca poznany, przypuszcza

się, że degradacja kolagenu hamowana jest w mechanizmie wiązania elektrostatycznego (27, 28).

Podejmowane są również próby regeneracji tkanki zębinowej, m.in. biomimetyczna remineralizacja zębiny. Jest to interesująca koncepcja, która wykorzystuje nanotechnologię dla uzyskania efektu podobnego do naturalnej remineralizacji zębiny. W strefach, gdzie niedostateczna ilość żywicy zastępowana jest wodą, dochodzi do jej wypierania przez kryształy apatytu. Wielkość kryształów jest na tyle mała, że pozwala na ich inkorporację zarówno na zewnątrz, jak i wewnątrz włókien kolagenowych. Mimo obiecujących wyników, koncepcja ta wciąż wymaga potwierdzenia w kontynuowanych badaniach (29, 30).

PODSUMOWANIE

Metaloproteiny są grupą enzymów proteolitycznych zdolnych do degradacji prawie wszystkich składników macierzy zębiny. Biorą udział zarówno w procesach fizjologicznych, jak i patologicznych występujących w środowisku jamy ustnej. Ich obecność stwierdzono w ślinie, płynie dziąsłowym, w szkliwie i zębinie. MMPs modyfikują przebieg zarówno choroby próchnicowej, jak i chorób przyzębia. Są identyfikowane w warstwie hybrydowej, a kwasowe komponenty środków adhezyjnych mogą przyczyniać się do ich aktywacji. Niekompletna impregnacja włókien kolagenowych systemem wiążącym może prowadzić do powstania nanouszkodzeń, które umożliwiają penetrację cząsteczkom wody, proteinazom oraz patogenom. W celu inhibicji aktywności MMPs podejmuje się wiele prób z użyciem różnych związków chemicznych. Jak dotąd najlepsze efekty hamowania czynności proteolitycznej MMPs wykazują czwartorzędowe związki amonowe. Nadal trwają jednak poszukiwania optymalnych inhibitorów, które umożliwią stabilizację strefy adhezji materiałów złożonych do tkanek zęba.

KONFLIKT INTERESÓW

Brak konfliktu interesów

ADRES DO KORESPONDENCJI

*Aneta Zduniak
Zakład Stomatologii Zachowawczej
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Miodowa 18 00-246 Warszawa
tel.: +48 504-134-792
aneta.zduniak@gmail.com

PIŚMIENICTWO

1. Breschi L, Martin P, Mazzoni A et al.: Use of specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mat* 2010; 26: 571-578.
2. Bourbia M, Ma D, Cvitkovitch DG et al.: Cariogenic bacteria degrade dental resin composites and adhesives. *J Dent Res* 2013; 92: 989-994.
3. Frassetto A, Breschi L, Turco G et al.: Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability – a literature review. *Dent Mat* 2016; 32: e41-e53.
4. Breschi L, Prati C, Gobbi P et al.: Immunohistochemical analysis of collagen fibrils within the hybrid layer: a FEISEM study. *Oper Dent* 2009; 29: 538-546.
5. Visse R, Nagase H: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003; 92: 827-839.
6. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S: The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res* 2006; 85(1): 22-32.
7. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR: Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers *in vivo*. *J Dent Res* 2005; 84(8): 741-746.
8. van Strijp AJ, Jansen DC, DeGroot J et al.: Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen *in situ*. *Caries Res* 2003; 37: 58-65.

9. Pashley DH, Tay FR, Yiu C et al.: Collagen degradation by host derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004; 83: 216-221.
10. Mazzoni A, Nascimento FD, Carrilho M et al.: MMP activity in the hybrid layer detected with *in situ* zymography. *J Dent Res* 2012; 91: 467-472.
11. Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V et al.: Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *J Dent Res* 2015; 94(2): 241-251.
12. Niu LN, Zhang L, Jiao K et al.: Localization of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in human coronal dentine. *J Dent* 2011; 39: 536-542.
13. Lipka D, Boratyński J: Metaloproteinazy MMP. Struktura i funkcja. *Postępy Hig Med Dosw* 2008; 62: 328-336.
14. Baker AH, Edwards DR, Murphy G: Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J Cell Sci* 2002; 115: 3719-3727.
15. Tersariol IL, Geraldini S, Minciotti CL et al.: Cysteine cathepsins in human carious dentin-pulp complex. *J Endod* 2010; 36: 475-481.
16. Nascimento FD, Minciotti CL, Geraldini S et al.: Cysteine cathepsins in human carious dentin. *J Dent Res* 2011; 90(4): 506-511.
17. Zduniak A, Mielczarek A: Rola endogennych metaloproteinaz (MMPs) w przebiegu procesu próchnicowego. *Stom Wsp* 2017; 24(1): 49-53.
18. Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L et al.: Strategies to prevent hydrolytic degradation of hybrid layer – a review. *Dent Mat* 2013; 29: 999-1011.
19. Zhou J, Tan J, Xang X et al.: MMP-inhibitory effect of chlorhexidine applied in a self-etching adhesive. *J Adhes Dent* 2011; 13: 111-115.
20. Pallan S, Furtado Arujo MV, Cilli R, Prakki A: Mechanical properties and characteristic of developmental copolymers incorporating catechin or chlorhexidine. *Dent Mater* 2009; 25: 1269-1274.
21. Cadenaro M, Pashley DH, Marchesi G et al.: Influence of chlorhexidine on the degree of conversion and E-modulus of experimental adhesive blends. *Dent Mater* 2009; 25: 1269-1274.
22. Almahdy A, Koller G, Sauro S: Effects of MMPs inhibitors incorporated within dental adhesives. *J Dent Res* 2012; 91: 605-611.
23. Carrilho MR, Carvahlo RM, de Goes MF et al.: Chlorhexidine preserves dentin bond *in vitro*. *J Dent Res* 2007; 86: 90-94.
24. Gu LS, Kim YK, Takahashi K et al.: Immobilization of a phosphonated analog of matrix phosphoproteins within cross-linked collagen as a templating mechanism of biomimetic mineralization. *Acta Biomater* 2011; 7: 268-277.
25. Tezvergil-Mutluay A, Agee K, Uchiyama T et al.: The inhibitory effects of quaternary ammonium methacrylates on soluble and matrix-bound MMPs. *J Dent Res* 2011; 90: 535-540.
26. Pashley DH, Tay FR, Imazato S: How to increase the durability of resin-dentin bonds. *Compend Contin Educ Dent* 2011; 32: 60-64.
27. Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Mazzoni A, Carvalho RM: Can quaternary ammonium methacrylates inhibit matrix MMPs and cathepsins? *Dent Mater* 2015; 31: 25-32.
28. Jiao Y, Niu L, Ma S, Li J: Quaternary ammonium-based biomedical materials: State-of-the-art, toxicological aspects and antimicrobial resistance. *Progr Polym Sci* 2017. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2017.03.001.
29. Niu L, Zhang W, Pashley DH et al.: Biomimetic remineralization of dentin. *Dent Mater* 2014; 30: 77-96.
30. Kim YK, Mai S, Mazzoni A et al.: Biomimetic remineralization as a progressive dehydration mechanism of collagen matrices-implications in the aging of resin dentin bonds. *Acta Biomater* 2010; 6: 3729-3739.

nadesłano:

16.10.2018

zaakceptowano do druku:

6.11.2018