

Актуальность применения хлоргексидина в адгезивном протоколе в девитальных зубах

© Хабадзе З.С., Шерозия М.Г., Генералова Ю.А., Недашковский А.А., Негорелова Я.А.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Российский университет дружбы народов» (РУДН), Москва, Россия

Резюме:

Цель. Определение актуальности применения хлоргексидинового адгезивного протокола в девитальных зубах.
Материалы и методы. Был проведен систематический обзор литературы в электронных базах данных Google Scholar и Pubmed. Рассмотрены и включены статьи, касающиеся исследований активности матриксных металлопротеиназ в витальных и в девитальных зубах, а также исследования об эффективности хлоргексидинового протокола.

Результаты. В ходе обзора было рассмотрено 60 статей. После произведения отбора по критериям исключения, число включенных исследований составило 36.

Выводы. По данным изученных публикаций, было установлено, что ММП 2 и ММП 9 содержатся не только в витальных, но и в девитальных зубах. Применение хлоргексидинового адгезивного протокола актуально и в том, и в другом клиническом случае, однако в зависимости от вида ММП и состояния пульпы подбирается концентрация хлоргексидина.

Ключевые слова: матриксные металлопротеиназы, хлоргексидин, ММП 2 и 9, ингибиторы металлопротеиназ, коллаген, карие, дентиногенез, пульпит.

Статья поступила: 30.08.2020; **исправлена:** 18.10.11; **принята:** 01.11.2020.

Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Для цитирования: Хабадзе З.С., Шерозия М.Г., Генералова Ю.А., Недашковский А.А., Негорелова Я.А. Актуальность применения хлоргексидина в адгезивном протоколе в девитальных зубах. Эндодонтия today. 2020; 18(4):26-31. DOI: 10.36377/1683-2981-2020-18-4-26-31.

The relevance applying in the adhesive protocol in devital teeth

© Z.S. Khabadze, V.S. Shubaeva, Yu.A. Generalova, A.A. Nedashkovsky, M.G. Sherozia, Ya.A. Negorelova
RUDN University, Moscow, Russia

Abstract:

Aim. To determine the relevance of the application of the chlorhexidine adhesive Protocol in devital teeth.

Materials and methods. A systematic review of the literature in the electronic databases Google Scholar and Pubmed was conducted. Articles related to research on the activity of matrix metalloproteinases in vital and devital teeth, as well as research on the effectiveness of the chlorhexidine Protocol, are considered and included.

Results. 60 articles were reviewed during the review. After making the selection based on the exclusion criteria, the number of included studies was 36.

Conclusions. According to the studied publications, it was found that MMP 2 and MMP 9 are contained not only in vital, but also in devital teeth. The use of a chlorhexidine adhesive Protocol is relevant in both clinical cases but depending on the type of MMP and the state of the pulp, the concentration of chlorhexidine is selected.

Keywords: matrix metalloproteinases, chlorhexidine, MMPs 2 and 9, inhibitors of metalloproteinases, collagen, dental caries, dentinogenesis, pulpitis.

Received: 30.08.2020; **revised:** 18.10.11; **accepted:** 01.11.2020.

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For citation: Z.S. Khabadze, V.S. Shubaeva, Yu.A. Generalova, A.A. Nedashkovsky, M.G. Sherozia, Ya.A. Negorelova. The relevance applying in the adhesive protocol in devital teeth. Endodontics today. 2020; 18(4):26-31. DOI: 10.36377/1683-2981-2020-18-4-26-31.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время хлоргексидиновый адгезивный протокол стал неотъемлемой частью качественного лечения заболеваний твердых тканей зубов благодаря его уникальной способности ингибировать активность матриксных металлопротеиназ, которые вызывают нарушение связи между дентином и адгезивом. Клинически доказано, что применение данного адгезивного протокола помогает улучшить показатели краевого прилегания, а также избавится от микроподтеканий, от краевой пигментации и от послеоперационной чувствительности. Главная цель этого протокола – создание качественного и устойчивого гибридного слоя, основными компонентами которого являются праймер и коллагеновые волокна дентина. При классическом адгезивном протоколе деградация гибридного слоя наступает в результате гидролиза коллагеновых волокон матриксными металлопротеиназами, из-за чего под действием тока жидкости образуются микроподтекания, нарушаются краевые прилегания.

Матриксные металлопротеиназы (MMPs) представляют собой семейство Zn²⁺- и Ca-зависимых эндопептидаз, которые после активации разрушают компоненты внеклеточного матрикса. MMPs играют важную роль во многих физиологических процессах, таких как эмбриональное развитие, морфогенез, дентиногенез, репродукция и ремоделирование ткани, также в патологических процессах воспаление пульпы зуба и прогрессирование кариозного процесса. Все MMP характеризуются наличием ионов цинка Zn²⁺ в активном центре и потребностью в ионах Ca²⁺ для стабилизации молекулы.^[8]

MMP классифицируются на шесть групп в зависимости от их структурной гомологии и субстратной специфичности: коллагеназы (MMP-1, MMP-8, MMP-13 и MMP-18), желатиназы (MMP-2 и MMP-9), стромелизины (MMP-3, MMP-10 и MMP-11), трансмембранные MMP или MT-MMP (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24 и MMP-24).^[25] и 2009 австралийская стоматологическая ассоциация 347 других (MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-22, MMP-23, MMP-27 и MMP-28).^[1]

Исследователи из разных стран сходятся во мнении, что основной причиной деградации деминерализованного дентина являются MMP2 и MMP9.^[27,28,29] Дентинный матрикс содержит в основном коллаген I типа, но также небольшое количество коллагена V типа и неколлагеновых белков, таких как белок I дентинного матрикса, фосфофорин и сиалопротеин.

MMP-2 (желатиназа-A). Данный фермент активируется с помощью автолиза, который имеет концентрационно-зависимый характер, степень которого возрастает в присутствии гепарина. В основе другого механизма активации лежит взаимодействие про-MMP-2 с двумя активными MMP-14 и TIMP2.

MMP-9 (желатиназа B) – это Zn-зависимая эндопептидаза, синтезируемая и секретируемая в виде мономера. Ее структура подобна MMP-2. Первоначально MMP-9 синтезируется в виде неактивного профермента.

По структуре MMP имеют в своем составе 6 доменов (большинство):

1. N-концевой сигнальный пептид, вспомогательный при секреции ферментов.
2. Про-домен, содержащий мотив «цистеиновый переключатель» – аминокислотную последовательность Pro-Arg-Cys-Gly-X-Pro-Asp. Остаток

цистеина координирует ион цинка, при отщеплении про-домена этот ион освобождается и используется для катализа. Таким образом фермент переходит из зимогена в активное состояние.

3. Каталитический домен, содержащий 150 аминокислот, а также консервативный мотив His-Glu-X-X-His-X-X-Gly-X-XHis, координирующий ион цинка с помощью остатков гистидина, необходим для сохранения MMP в латентной форме и отщепляется в процессе активации профермента. В катализе также участвует остаток глутаминовой кислоты. Для корректной положения в пространстве гидролизуемого полипептида относительно каталитического участка необходим «канонический» остаток метионина. В составе каталитического домена также имеются три фибронектиновые домены типа II, участвующих в связывании коллагенов при последующем гидролизе.
4. Петлевой линкерный домен.
5. Гемопексиновый домен, имеющий форму пропеллера, регулирующий связывание с субстратом и некоторыми ингибиторами MMP.
6. Трансмембранный домен есть только у MMP мембранных типов.^[2,3]

MMP-2 и MMP-9 синтезируются одонтобластами и локализуются главным образом в интрапульплярном пространстве коллагеновой фибрillлярной сети и вдоль коллагеновых волокон в неактивной форме.^[6] Причиной деградационного влияния на дентин является нарушение баланса между MMP и их ингибиторами. Они могут быть активированы протеиназами или *in vitro* химическими веществами, такими как тиол-модифицирующие агенты, окисленный глутатион, хаотропные агенты и активные формы кислорода. Эти агенты и процедуры, вероятно, работают через нарушение связывания цистеин-цинк.^[25]

Активация про-MMP происходит при низких значениях pH ниже 4,5. При кариесе болезнесторные бактерии выделяют молочную кислоту (лактат), которые снижают значения pH до оптимальных для активности протеиназ, также активация может происходить во время обработки дентина ортофосфорной кислотой или при применение адгезивных систем 6 и 7 поколения. После восстановления уровня pH буферными системами слюны активированные MMP продолжают гидролиз коллагеновых волокон дентина.^[4,5]

TIMP – это естественные ингибиторы MMPs, которые содержатся в большинстве тканей и жидкостей организма. Среди этих ингибиторов MMPs TIMP-1 в основном комплексуется с MMP-9, а TIMP-2 может связывать как латентный, так и активный MMP-2. Кроме того, TIMP-2 также необходим для эффективной активации про-MMP-2.^[24]

ЦЕЛЬ

Рассмотрение активности и количества матриксных металлопротеиназ в витальных и девитальных зубах, а также рассмотрение справедливости применения хлоргексидинового адгезивного протокола в данной клинической ситуации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для написания данной обзорной статьи был проведен поиск в электронных базах данных PubMed и Google scholar и в списках литературы, которые указаны в найденных исследованиях и статьях. Для поиска были выбраны следующие термины: «matrix

«metalloproteinases», «chlorhexidine», «MMPs 2 and 9», «inhibitors of metalloproteinases».

Исследования были отфильтрованы в два этапа. На первом этапе производился анализ названия и краткого содержания публикаций. На втором этапе происходило ознакомление с содержанием и рассмотрение полнотекстовых вариантов отобранных статей. При выборе источников предпочтение отдавалось более поздним публикациям. Самая ранняя публикация датируется 1990 годом, самая поздняя 2019 годом. Поиск производился 13.06.2020.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе обзора было рассмотрено 59 статьи, из них 29 с базы данных PubMed, 30 с Google Scholar и 1 при статейных ссылки. После произведения отбора по критериям исключения, число включенных исследований составило 36.

Исходя из изученных нами публикаций, приводим Вам результаты некоторых исследований, описывающих факторы, влияющие на прогноз дентальной имплантации при СД II типа:

1. Исследование, проведенное в 2018 году, доказало, что применение хлоргексидинового протокола актуально не только при кардиозных поражениях, но и при гиперемии пульпы. Участники были разделены на две группы. Первой группе лечение проводили с использованием водного раствора хлоргексидина, во второй группе применяли спиртовой раствор хлоргексидина. Оба протокола оказались эффективными в данной клинической ситуации. [7]
2. В апреле 2017 года было проведено исследование, затрагивающее спорный вопрос

использования хлоргексидина и этанола в процессе адгезивной подготовки. Исследование проводилось на удаленных и далее очищенных зубах. В результате эксперимента было доказано, что применение хлоргексидинового и спиртового протокола, эффективнее классического адгезивного протокола, даже в девитальных зубах. [13]

3. При иммунохромотографическом анализе (с использованием коньюгата наночастиц золота со специфическими антителами к ММП 2, ММП 8, ММП 9 и ММП 20) пяти удаленных кардиозных моляров было установлено, что количество ферментов находящихся в дентине напрямую зависит от степени его вовлечения в кардиозный процесс. ММП выявлены как в кардиозном, так и в здоровом дентине. Уровень ММП-2 не выявил достоверной разницы между наружным кардиозным, внутренним кардиозным и здоровым дентином (тест Фридмана, $P = 0,6661$, $V2 = 0,813$). Однако другие ММП показали значительную разницу в распределении между различными областями дентина. Показатели ММП-8 и ММП-9 значительно снижались на внутреннем кардиозном дентине по сравнению с уровнем здорового дентина, но снова усиливались на внешнем кардиозном участке (тест Фридмана, ММП-8: $p = 0,0008$, $v2 = 14,25$; ММП-9: $P = 0,0111$, $v2 = 9,000$). [19]
4. В 2011 году китайскими учеными было проведено исследование с использованием различных диагностических методов. Иммуногистохимическое окрашивание доказало, что ММП-2 и ММП-9



Схема 1. Процесс отбора статей.

Scheme 1. Article selection process.

- располагаются в наибольшей концентрации в окружении отростков одонтобластов и в предентине, также на эмалево-дентинном соединение (для ММП-2). Наиболее интенсивное окрашивание отмечалось в внутренних слоях дентина в периодонтобластическом пространстве. Для TIMP-1 наблюдалась аналогичная картина распределения. TIMP-2 показал только слабое окрашивание в одонтобластах и предентине. Двойная иммунофлуоресцентная маркировка показала, что ММП-2 колокализуется с TIMP-2 преимущественно в одонтобластах. Их колокализация в предентинном и околопульпарном дентине была слабой из-за низкой иммунореактивности TIMP-2, а для ММП-9 и TIMP-1 колокализация была идентифицирована во всех областях. Иммуноферментный твердофазный анализ установил, что концентрация ММП-2 составляет в плащевом дентине $3,18 \pm 1,23$, в околопульпарном дентине $3,38 \pm 1,10$, в предентине $5,33 \pm 1,53$, для ММП-9 значение соответственно $0,23 \pm 0,08$, $1,48 \pm 0,41$, $3,27 \pm 0,86$. При исследовании зубов с помощью желатиновой зигмографии было установлено, что наибольшей желатинолитической активность обладают ММП в области предентина. В экстрактах белка дентина желатинолитическая активность ММП-2 оказалась сильнее, чем у ММП-9. [23]
5. Изучение действия СНХ на очищенные ММП человека, выделенные из клеток фибросаркомы человека и клеток млекопитающих, показало, что он обладает дозозависимым ингибирующим действием в отношении активности ММП-2 и ММП-9. Этот ингибирующий эффект связан с хелатирующим механизмом. [30]
 6. Ингибирующее действие ХГ зависит от концентрации. Минимальная концентрация ХГ, которая приводит к полному ингибированию активности ММП-9, составляла 0,002%, тогда как активность ММП-2 намного более чувствительная, так как ингибируется при концентрации ХГ 0,0001%. При концентрации 0,03% ХГ происходит полное ингибирование активности желатиназы ММП-2 и -9. Вполне вероятно, что при высоких концентрациях ХГ ММП-2 инактивируется денатурацией белка, а не хелатированием катионов. [32]
 7. В 2014 году было доказано *in vitro*, что ХГ в концентрации 0,04% и выше полностью ингибирует желатиназы, выделяемые из кариозного дентина. Влияние повышения концентрации хлоргексидина на процент относительной желатинолитической активности в кариозном дентине при 0,01% процент составил $36 \pm 0,32$, при 0,04 и выше процент был $0 \pm 0,00$. По сравнению с контролем без ХГ концентрация ХГ 0,01% частично снижала ферментативную активность полос 86, 75, 38, 33 и 32 КДА в 1,3, 1,5, 1,4, 3,0 и 3,2 раза соответственно. Концентрации ХГ 0,04, 0,08 и 1% полностью ингибировали относительную ферментативную активность всех полос по сравнению с контролем без ХГ. Все полосы с желатинолитической активностью были ингибированы при этих концентрациях ХГ, включая наиболее заметную полосу 38 КДА. [31]
 8. С помощью метода анализа бицинхониновой кислоты (Pierce, Rockford, IL, USA) была определена концентрация общего белка в

деминерализованном экстракте дентина. Затем измеряли концентрации ММП (5, 10 и 20 нг/мг белка, а также 3, 6 и 12 нг/мг белка ММП-9 и ММП-2 соответственно). В условиях более высокого восстановления ММП (деминерализующая обработка лимонной кислотой и осаждение сульфата аммония) было обнаружено 15,9 и 8,4 нг/мг белков ММП-2 и -9 соответственно. [33]

9. При исследовании влияния различных ионов металлов на активность матриксных металлопротеиназ, полученных из десневых эксплантов больных пародонтитом, было установлено, что ZnSO₄ может ингибировать ММП-2 и ММП-9, CuSO₄ способен ингибировать только ММП-2. SnCl₂ и HgSO₄ оказывают некоторое ингибирующее действие как на активность ММП-2, так и на активность ММП-9. [34]

ОБСУЖДЕНИЕ

Хлоргексидиновый адгезивный протокол состоит из следующих этапов:

1. Протравливание эмали (15-30 секунд) и дентина (до 12 секунд) 35-37% ортофосфорной кислотой;
2. Промывание сформированной кариозной полости дистиллированной водой (30 секунд) и подсушивание;
3. Обработка 2%-раствором хлоргексидина биглюконата (60 секунд). Препарат не смывают, а слегка подсушивают.
4. Нанесение адгезивной системы.
5. Полимеризация адгезива.

При протравливании дентина 37% ортофосфорной кислотой происходит удаление смазанного слоя и обнажение коллагеновых волокон, важно понимать, что происходит удаление только минерального компонента (состав дентина до протравливания: апатиты 50%, коллаген 30%, вода 20%; состав дентина после протравливания: апатиты 0%, коллаген 30%, вода 70%), следовательно, белки интрапульплярного пространства также остаются. На данном этапе необходимо понимать, что при нарушении времени экспозиции протравливающего агента, будет также нарушена рекомендованная глубина растворения дентина, которая составляет 5-7 мкн, а длина реакционной группы мономера праймера, не позволит ему прореагировать с OH группой апатитов и аминогруппой коллагена на всю заданную ошибкой длину, в результате чего не удастся достичь качественного пропитывания коллагеновых фибрил мономером, как следствие у ММП появится дополнительная среда обитания из-за наноподтеканий. [14]

Важным критерием для следующего этапа обработки является полная инактивация желатиназ дентина, для этого их обрабатывают хелатными агентами. В практике применяют хлоргексидин, клинически доказано, что в 0,001% хватает для инактивации ММП-2, 0,02% для ММП-8 и 0,002% для ММП-9, однако в большинстве исследований представленных ранее использовали 2% раствор хлоргексидина, так как он вступает во взаимодействие с гидроксиапатитами дентина и образует комплекс, этот феномен называется «биосубстантность», за счет этого удается достигнуть пролонгированного действия. [12, 17, 18, 32]. Однако как говорилось в [31] полной инактивации ММП достаточно концентрации, превышающей порог 0,04%.

При взаимодействии хлоргексидина и ММП происходит инактивация последних, за счет связывания с

сульфидрильными группами активного участка ММП, так же за счет конкуренции за Ca^{2+} и за Zn^{2+} , которые необходимы ММП для активности. [9-11]

Использование адгезивных систем сухого бондинга, то есть 6 и 7 поколения не позволяет проводить хлоргексидиновый адгезивный протокол, так как в данном случае не происходит удаление смазанного слоя, происходит лишь частичная биомодификация, образуются гибридный слой толщиной до 2 мкн. [15,16]

Важным преимуществом хлоргесидина в качестве ингибитора является его нейтральность по отношению к компонентам адгезивной системы, что подтверждают исследования, как *in vitro*, так и *in vivo*. [12]

При исследовании девитальных зубов было доказано, что ММП снижают свою активность. Одной из возможных функций ММП дентина является активация факторов роста таких как TGF- β и BMPs, которые также содержатся в дентине. Считается, что в ответ на внешнее раздражение эти факторы роста высвобождаются из дентина и активируют секрецию внеклеточного матрикса одонтобластов и reparativeное образование дентина (третичного дентина). Следовательно, связанные с дентином ММП могут также играть защитную роль во время прогрессирования кариеса, высвобождая факторы роста, связанные с дентином. [22] Однако важно отметить, что ММП могут попадать в зуб из слюнной жидкости. Несколько исследований показали, что полиморфноядерные лейкоциты, мигрирующие через бороздчатый эпителий в десневую борозду, являются основным источником слюнных ММП. Между тем, если кариозное поражение локализуется в шейном отделе, то щелевая десневая жидкость и кровотечение при заболеваниях пародонта будут системно влиять на прогрессирование кариеса и на уровень ММП в дентине зуба [20, 21, 26].

Растворимые ионы металлов постоянно высвобождаются из стоматологических материалов, и влияние этих ионов на ротовую среду было основным предметом стоматологических исследований. Известно, что металлопротеиназы, ингибируются цинком и другими двухвалентными металлами. Металлы широко используются в клинической стоматологии, присутствуя в восстановительных материалах, таких как амальгама, металлические сплавы и цементы оксида цинка-эвгенола, а также в зубных пастах и зубных протезах. Механизм инактивации ферментов металлами до конца не изучен. Предполагается, что ионы металлов связываются с определенными участками, вызывая конформационные изменения, которые инактивируют каталитическую функцию ферментов. Ларсен и Олд показали, что механизм ингибирования цинком карбоксипептидазы а, цинковой металлопротеиназы, обусловлен образованием моногидроксида цинка, который связывает каталитический Ион цинка с боковой цепью в активном центре фермента. Неконкурентное ингибирование другими ионами тяжелых металлов объясняется связыванием Иона с участком, отличным от активного [34]. Данные факты подтверждают необходимость использования ХГ в качестве ингибирующего агента при работе с неметаллическими пломбировочными материалами (композитами).

Также есть данные об эффективности применения ХГ совместно с оксидом цинка. ZnO -амфотерный оксид, хотя обычно он проявляет основные свойства. Он почти нерастворим в воде и спирте, но растворим в кислотах и разлагается ими. Частицы ZnO небольшого размера были выбраны для того, чтобы индуцировать

самую высокую межфибрillлярную инфильтрацию. Высокая растворимость ZnO в сочетании с кислотой может также объяснить эффективное высвобождение ионов цинка на границе смола-дентин. [35,36]

Исходя из результатов представленных ранее исследований можно сделать вывод, что, если желатинолитические свойства увеличиваются от наружного слоя дентина к предентину [23], степень и скорость дегенерации гибридного слоя, также будет зависеть от степени поражения зуба. Так при глубоком кариесе или при пульпите глубина полости будет достигать участков дентина с повышенной активностью ММП, а значит разрушение гибридного слоя будет происходить быстрее.

Гистологически корень зуба состоит из нескольких слоев тканей: цемент, дентин, пульпа. В дентине выделяют: слой Оуэна, слой терминалных дентинных трубочек, слой разветвленных дентинных трубочек, слой прямых дентинных трубочек, слой предентина. Изнури предентин покрывает периферический слой пульпы, состоящий из клеток одонтобластов, которые как говорилось ранее отвечают за синтез ММП белков. Следовательно, в корневых каналах также содержатся желатиназы, которые могут активироваться при указанных выше условиях. Исходя из этой информации можно сделать вывод, что при эндодонтической инструментальной и медикаментозной обработке корневых каналов необходимо последним этапом перед началом пломбирования корневого канала обрабатывать последний 2% раствором хлоргексидина, с целью ингибирования ММП, следует также помнить, что после такой обработки недопустимо использовать гипохлорид натрия, так как ХГ образует комплекс с дентином, как уже говорилось ранее.

Важно отметить, что большинство исследований проводят на удаленных и в последующем специально обработанных зубах. Следовательно, полученные результаты можно применять на практике, не только на живых зубах, но и на девитальных.

ВЫВОДЫ

Исходя из полученных данным, мы пришли к выводу, что хлоргексидиновый протокол является важным этапом для создания качественного, прочного гибридного слоя. Как в девитальных, так и в витальных зубах ХГ улучшает показатели краевого прилегания и отсрочивает клинически значимую дегенерацию гибридного слоя. Экспериментально доказано, что при концентрации ХГ более 0,04 % происходит полная инактивация ММП, при концентрации 2 % удается достичь пролонгированного действия. Однако, остается открытым вопрос, какая концентрация является оптимальной для применения на практике в зависимости от витальности пульпы.

Стоматологические растворы ХГ разработанные для борьбы с бактериальным налетом, доступны в диапазоне концентраций от 0,1% до 0,2% и поэтому могут быть использованы по прямому назначению. ХГ также может быть включен в рецептуру материалов, которые вступают в контакт с дентином в профилактических или восстановительных процессах для ингибирования желатиназ, активируемых кариесом или терапевтическими процедурами. Данный вопрос подлежит дальнейшему изучению.

Также стоит отметить, что вопрос важности ингибирования ММП дентина корневого канала недостаточно изучен, но является также актуальным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES:

1. Chaussain-Miller C., Fioretti F., Goldberg M., Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res* 2006; 85:22-32.
2. Cieplak P., Strongin A.Y./ Matrix metalloproteinases – From the cleavage data to the prediction tools and beyond. *Biochim Biophys Acta*. 2017. pii: S0167-4889(17)30064-23. Raffetto J.D., Khalil R.A./ Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease. *Biochem Pharmacol*. 2008;75(2):346-59.
4. Lu Y, Papagerakis P, Yamakoshi Y, Hu JC, Bartlett JD, Simmer JP. Functions of KLK4 and MMP-20 in dental enamel formation. *Biol Chem*. 2008 Jun;389(6):695-700.
5. Prajapati S, Tao J, Ruan Q, De Yoreo JJ, Moradian-Oldak J Matrix metalloproteinase-20 mediates dental enamel biominerization by preventing protein occlusion inside apatite crystals. *Journal Biomaterials*. 2016; 75: 260-270.
6. Vladimirova M. D., Veselkov S. A. Matrix metalloproteinases of the tooth Scientific journal "Student forum". 2019; 770 (26): 13-15.
7. Abdulkerimova SM, Khabadze Z.S. "Clinical experience of the use of aqueous and alcohol solutions of chlorhexidine in the treatment of dentin caries" Scientific discussion. 2018; 17(1).
8. Ganusevich I. I. Oncology. 2010; 1 (1): 10-16
9. Tezvergil-Mutluay A., Mutluay M.M., Gu L.S., Zhang K., Agee K.A., Carvalho R.M., et al. The anti MMP activity of benzalkonium chloride. *J Dent*. 2011; 39: 57-64.
10. Gendron R., Grenier D., Sorsa T., Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6: 437-439.
11. De Munck J., Van den Steen P.E., Mine A., Van Landuyt K.L., Poitevin A., Opdenakker G., et al. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *J Dent Res* 2009;88: 1101-1106.
12. P.C.Moon, J.Weaver, C.N.Brooks . Review of Matrix Metalloproteinases' Eff ect on the Hybrid Dentin Bond Layer Stability and Chlorhexidine Clinical Use to Prevent Bond Failure The Open Dent J. 2010; 4 (3): 147-152.
13. I.Ramezanian, E. Baradaran Effect of Chlorhexidine and Ethanol on Microleakage of Composite Resin Restoration to Dentine. The Chinese Journal of Dental Research 2017; 20: 161 -168.
14. Freeman, D., And Leinfelder, K. Seventh-generation adhesive systems. *Clinical dentistry*. 2003; 3: 4-8.
15. Gregoire G. Microscopic evaluation of dentin interface obtained with 10 contemporary self-etching systems: correlation with their pH. *Oper Dent*. 2005 Jul Aug N.30(4)
16. Luz M.A., Arana-Chavez V.E., Netto N.G.Scanning electron microscopy examination of 3 different adhesive systems. *Quintessence Int*. 2005 N.36(9)
17. Breschi L., Mazzoni A., Nato F., Carrilho M., Visintini E., Tjäderhane L., Ruggeri A. Jr., Tay F. R., Dorigo Ede S., Pashley D. H.Chlorhexidine stabilizes the adhesives interface: a 2-year in vitro study. *Dent Mater* 2009.
18. Carrilho M. R., Geraldeli S., Tay F., de Goes M. F., Carvalho R. M., Tjäderhane L., Reis A.F., Hebling J., Mazzoni A., Breschi L., Pashley D. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res*. 2007.
19. Shimada Y, Ichinose S, Sadr A, Burrow MF, Tagami J. Localization of matrix metalloproteinases (MMPs-2, 8, 9 and 20) in normal and carious dentine. *Aust Dent J*. 2009 Dec;54(4):347-54.
20. Sorsa T., Suomalainen K., Uitto V.J. The role of gingival crevicular fluid and salivary interstitial collagenases in human periodontal diseases. *Arch Oral Biol* 1990;35(Suppl):193S-196S
21. Rai B, Kharb S, Jain R, Anand SC. Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *J Oral Sci*. 2008 Mar;50(1):53-6.
22. Sloan A.J., Smith A.J. Stimulation of the dentine-pulp complex of rat incisor teeth by transforming growth factor-b isoforms 1-3 in vitro. *Arch Oral Biol* 1999;44:149-156.
23. Niu LN, Zhang L, Jiao K, Li F, Ding YX, Wang DY, Wang MQ, Tay FR, Chen JH. Localization of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in human coronal dentine. *J Dent*. 2011 Aug;39(8):536-42
24. Lu KV, Jong KA, Rajasekaran AK, Cloughesy TF, Mischel PS.Uptregulation of tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-2 promotes matrix metalloproteinase (MMP)-2 activation and cell invasion in a human glioblastoma cell line. *Laboratory Investigation* 2004; 84:8-20
25. Nagase H., Woessner J.F. Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*; 274: 21491-21494. 1999.
26. Kushlinskii N.E., Solovykh E.A., Karaoglanova T.B., Bayar U., Gershtein E.S., Troshin A.A., Kostyleva O.I., Grinin V.M., Maksimovskaya L.N., Yanushevitch O.O. Content of matrix metalloproteinase-8 and matrix metalloproteinase-9 in oral fluid of patients with chronic generalized periodontitis. *Bull Exp Biol Med*; 15: 240-244. 2011.
27. Boushell L.W., Swift E.J. Jr. Critical appraisal. Dentin bonding: matrixmetalloproteinases and chlorhexidine. *J Esthet Restor Dent*; 23: 347-352.2011.
28. Breschi L., Martin P., Mazzoni A., Nato F., Carrilho M., Tjäderhane L., Visintini E., Cadernaro M., Tay F.R., De Stefano Dorigo E., Pashley D.H. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater*; 26: 571-578. 2010.
29. Hebling J., Pashley D.H., Tjäderhane L., Tay F.R.Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res*; 84: 741-746.2005.
30. Gendron R., Grenier D., Sorsa T., Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8 and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6: 437 - 439.
31. Trufello AM, Orellana BU, Moraga CL, Puente CL, Morales-Bozo I. Subclinical concentrations of chlorhexidine inhibit gelatinase activity of carious dentine in vitro. *Aust Dent J*. 2014 Mar;59(1):81-6.
32. R. Gendron, D. Grenier, T. Sorsa, D. Mayrand. Inhibition of the Activities of Matrix Metalloproteinases 2, 8 and 9 by Chlorhexidine. C LINICAL AND D IAGNOSTIC L ABORATORY I MMUNOLOGY. May 1999 p. 437-439
33. A. Mazzoni, F. Mannello, F.R. Tay, G.A.M. Toni, S. Papa, G. Mazzotti, R. Di Lenarda, D.H. Pashley, L. Breschi. Zymographic Analysis and Characterization of MMP-2 and -9 Forms in Human Sound Dentin. *J Dent Res* -86(5):436-440, 2007
34. de Souza AP, Gerlach RF, Line SR. Inhibition of human gingival gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by metal salts. *Dent Mater*. 2000 Mar;16(2):103-8.
35. Alaghehmad H, Mansouri E, Esmaili B, Bijani A, Nejadkarimi S, Rahchamani M. Effect of 0.12% chlorhexidine and zinc nanoparticles on the microshear bond strength of dentin with a fifth-generation adhesive. *Eur J Dent*. 2018;12(1):105-110.
36. Osorio R, Yamauti M, Osorio E, Román JS, Toledoano M. Zinc-doped dentin adhesive for collagen protection at the hybrid layer. *Eur J Oral Sci*. 2011 Oct;119(5):401-10.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Хабадзе З.С. – к.м.н., доцент кафедры Терапевтической стоматологии, ORCID ID: 0000-0002-7257-5503.

Генералова Ю. А. – студент.

Шубаева В.С. – студент.

Шерозия М. Г. – студент.

Недашковский А. А. – студент.

Негорелова Я.А. – студент.

Медицинский институт Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» (РУДН), Москва, Россия.

AUTHOR INFORMATION:

Z.S. Khabadze – Ph.D., Associate Professor, Department of Therapeutic Dentistry, ORCID: 0000-0002-7257-5503.

Yu.A. Generalova – student.

V.S. Shubaeva – student.

A.A. Nedashkovsky – student.

M.G. Sherozia – student.

Ya.A. Negorelova – student.

Medical Institute RUDN University, Moscow, Russia.

Координаты для связи с авторами / Coordinates for communication with authors:

Хабадзе З.С. / Z.S. Khabadze, dr.zura@mail.ru