

Universidad de Granada  
Facultad de Odontología  
Departamento de Estomatología



**Efecto del tratamiento con Hipoclorito Sódico en la  
caracterización de la superficie dentinaria y en la  
eficacia de unión de un sistema adhesivo  
basado en acetona**

Tesis Doctoral

*Pedro de Melo e Moura*

Granada, Febrero 2010

Editor: Editorial de la Universidad de Granada  
Autor: Pedro de Melo e Moura  
D.L.: GR 2400-2010  
ISBN: 978-84-693-1308-4







**FÁTIMA SÁNCHEZ AGUILERA, PROFESORA CONTRATADA DOCTOR  
DEL DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE  
ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**CERTIFICA:**

**Que los trabajos efectuados en la elaboración de la Memoria de Investigación titulada: "EFECTO DEL TRATAMIENTO CON HIPOCLORITO SÓDICO EN LA CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DENTINARIA Y EN LA EFICACIA DE UNIÓN DE UN SISTEMA ADHESIVO BASADO EN ACETONA" presentada por D. Pedro de Melo e Moura, han sido realizados bajo mi codirección y supervisión, reuniendo las condiciones académicas necesarias para su presentación, para optar al Grado de Doctor.**

**Y para que así conste donde proceda, firmo la presente en Granada, a dos de Febrero de 2010.**

**Fdo.: Fátima Sánchez Aguilera**



**RAQUEL OSORIO RUIZ, CATEDRÁTICA DEL DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**CERTIFICA:**

**Que los trabajos efectuados en la elaboración de la Memoria de Investigación titulada: "EFECTO DEL TRATAMIENTO CON HIPOCLORITO SÓDICO EN LA CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DENTINARIA Y EN LA EFICACIA DE UNIÓN DE UN SISTEMA ADHESIVO BASADO EN ACETONA" presentada por D. Pedro de Melo e Moura, han sido realizados bajo mi codirección y supervisión, reuniendo las condiciones académicas necesarias para su presentación, para optar al Grado de Doctor.**

**Y para que así conste donde proceda, firmo la presente en Granada, a dos de Febrero de 2010.**

**Fdo.: Raquel Osorio Ruiz**





**MANUEL TOLEDANO PÉREZ, CATEDRÁTICO DEL DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**CERTIFICA:**

**Que los trabajos efectuados en la elaboración de la Memoria de Investigación titulada: "EFECTO DEL TRATAMIENTO CON HIPOCLORITO SÓDICO EN LA CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DENTINARIA Y EN LA EFICACIA DE UNIÓN DE UN SISTEMA ADHESIVO BASADO EN ACETONA" presentada por D. Pedro de Melo e Moura, han sido realizados bajo mi dirección y supervisión, reuniendo las condiciones académicas necesarias para su presentación, para optar al Grado de Doctor.**

**Y para que así conste donde proceda, firmo la presente en Granada, a dos de Febrero de 2010.**

**Fdo.: Manuel Toledano Pérez**



---

## AGRADECIMIENTOS

A mi tutor, el Prof. Manuel Toledano Pérez, por su inestimable dirección, constante enseñanza y su confianza en este proyecto y en mí.

A la Prof. Raquel Osorio Ruiz, por su rigor científico, amplios conocimientos y por su apoyo continuo.

A la Prof. Fátima Sánchez Aguilera, por sus orientaciones, disponibilidad e incansable aliento en la realización de este trabajo.

A la Prof. Estrella Osorio Ruiz por todas sus directrices científicas, su alentador ánimo y su permanente disponibilidad.

A la Prof Ana Azul y al Prof. Mário Pulido por todo su apoyo, comprensión y amistad.

Al Profesor Miguel A. Cabrerizo Vilchez, por la disponibilidad de su laboratorio y sus indicaciones técnicas en la parte física del trabajo.

A Gertrudis Gómez Villaescusa, por su enorme ayuda en el laboratorio.

A mis compañeros de la Facultad de Ciencias, por su labor en la toma de datos.

A Francisco Fernández Yáñez por su asistencia y disponibilidad.

A mis amigos y compañeros de ISCS por su comprensión, ayuda y amistad.

A Ana, a mis padres y a mi hermano por todo su amor, cariño, incentivo y apoyo.

Y, a todas las personas sin las que éste trabajo no hubiera podido salir delante.

A los proyectos de investigación MAT 2008-02347/MAT de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, y P08-CTS-3944 y P07-CTS-2568 de la Junta de Andalucía, dentro de los cuales se ha desarrollado este trabajo.





**A Ana**

**A mis padres**

**A mi hermano**



## ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>7</b>
<b>I.1. Histomorfología de la dentina</b>	<b>9</b>
I.1.1. Histología de la dentina coronal.	10
I.1.2. Colágeno dentinario.	12
<b>I.2. Adhesión</b>	<b>13</b>
I.2.1. Concepto de adhesión.	13
I.2.2. Adhesión a dentina.	15
I.2.2.1. Concepto de barrillo dentinario.	16
I.2.2.2. Acondicionamiento del tejido dentinario.	16
I.2.2.3. Remoción del barrillo dentinario.	18
I.2.2.4. Grabado ácido de la dentina y colapso del colágeno.	19
I.2.2.5. Imprimación.	23
I.2.3. Sistemas adhesivos. Clasificación y características.	24
I.2.3.1. Adhesivos que eliminan el barrillo dentinario (grabar y lavar).	26
I.2.3.2. Adhesivos que disuelven el barrillo dentinario.	28
I.2.3.3. Adhesivos que modifican el barrillo dentinario.	29
I.2.4. Estudio de la resistencia adhesiva.	31
<b>I.3. Fenómenos de superficie que influyen en la adhesión en Odontología</b>	<b>32</b>
I.3.1. Tensión superficial y energía de superficie.	34
I.3.2. Humectabilidad.	37
I.3.3. Penetración capilar.	39
I.3.4. Viscosidad.	39
I.3.5. Temperatura.	39
<b>II. OBJETIVOS</b>	<b>41</b>
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>45</b>
<b>III.1. Material</b>	<b>47</b>
<b>III.2. Caracterización de la superficie.</b>	<b>51</b>
III.2.1. Medida del ángulo de contacto.	51
III.2.1.1. Determinación de la tensión superficial.	51
III.2.1.2. Preparación de las muestras.	52
III.2.1.3. Medición de ángulo de contacto.	54
III.2.2. Perfilometría de superficie (rugosidad).	55
<b>III.3. Caracterización de la interfase.</b>	<b>57</b>
III.3.1. Evaluación de la resistencia adhesiva.	57
III.3.1.1. Obtención de las superficies de estudio.	60
III.3.1.2. Aplicación del sistema adhesivo.	61
III.3.1.3. Ensayo de cizallamiento.	63
III.3.1.4. Análisis fractográfico	65



III.3.2. Análisis de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB).	65
<b>III.4. Análisis estadístico.</b>	<b>66</b>
III.4.1. Estadística descriptiva.	66
III.4.2. Estadística analítica.	66
<b>IV. RESULTADOS</b>	<b>67</b>
<b>IV.1. Caracterización de la superficie</b>	<b>69</b>
IV.1.1. Humectabilidad (Ángulo de contacto (°)).	69
IV.1.2. Perfilometría de la superficie.	72
<b>IV.2. Caracterización de la interfase.</b>	<b>73</b>
IV.2.1. Evaluación de la resistencia adhesiva ( <i>SBS</i> ).	73
IV.2.2. Análisis Fractográfico.	74
IV.2.3. Microscopia Electrónica de Barrido.	75
<b>V. DISCUSIÓN</b>	<b>81</b>
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>105</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>109</b>

# I. INTRODUCCIÓN



# I. INTRODUCCIÓN

## I.1. Histomorfología de la dentina

La dentina es un sustrato biológico básico que sirve de adherente en Odontología Restauradora. Es un tejido que, debido a su compleja histología y morfología, condiciona la aplicación de los sistemas adhesivos.

Histológicamente la dentina coronal y la radicular son distintas. Los odontoblastos que forman la dentina radicular se diferencian a partir de las células epiteliales de Hertwig, lo que hace que esta dentina sea diferente en términos estructurales y de composición a la dentina coronal, en la que, los odontoblastos se diferencian a partir de las células ectomesenquimáticas de la papila del germen dentario (Gómez y Campos, 2001). Sin embargo, las características de la dentina radicular no son de gran relevancia para este trabajo.

### I.1.1. Histología de la dentina coronal.

La dentina coronal es un tejido conjuntivo mineralizado y avascular que está constituido:

■ en peso por:

- el 70% de materia inorgánica (principalmente hidroxiapatita),
- el 18% de materia orgánica (principalmente fibras de colágeno),
- el 12% de agua (Gómez y Campos, 2001).

■ en volumen por:

- el 50% materia inorgánica,
- el 25% materia orgánica,
- el 25% agua (Roberson y cols., 2006).

La proporción inorgánica de la dentina está constituida básicamente por cristales de hidroxiapatita. Junto a estos cristales se pueden encontrar fosfatos cálcicos amorfos, probablemente en mayor cantidad en los tejidos formados más tardíamente que en los tejidos maduros o viejos (Melfi, 1994; Gómez y Campos, 2001). Los cristales de hidroxiapatita ( $3\text{Ca}_3(\text{PO})_4\text{-Ca}(\text{OH})_2$ ) están formados por miles de unidades moleculares y tienen una forma laminar. Su longitud es de hasta 36 nm, la anchura es de 25 nm y la altura de 10 nm. Son semejantes a los cristales formados en el cemento y en el hueso, y son más pequeños que los cristales del esmalte. Existen también otras sales inorgánicas como: los carbonatos, los fosfatos cálcicos distintos de la hidroxiapatita, los sulfatos y ciertos oligoelementos (por ejemplo: F, Cu, Zn, Fe, Mg) (Davis, 1986; Melfi, 1994; Gómez y Campos, 2001).

La porción orgánica (Davis, 1986; Melfi, 1994; Gómez y Campos, 2001) está compuesta principalmente por fibras de colágeno tipo I (aproximadamente el 90% en peso de todo el material orgánico). Además, se pueden encontrar proteínas semejantes a las existentes en la matriz ósea (por ejemplo osteonectina, osteopontina, proteína Gla), proteínas únicas de la dentina (por ejemplo fosforina

dentinaria), proteoglicanos (condroitina sulfato) y proteínas del suero (por ejemplo albúmina, fosfolípidos).

En el tejido dentinario se pueden distinguir cinco unidades estructurales diferentes: los odontoblastos, los túbulos dentinarios, el espacio periodontoblástico, la dentina peritubular y la dentina intertubular (Mjör y Fejerskov, 1989).

Los odontoblastos son células especializadas que tapizan la pared de la cámara pulpar y que poseen largas prolongaciones citoplasmáticas (proceso odontoblastico) localizadas en el interior de los túbulos dentinarios.

Los túbulos dentinarios alojan a la prolongación odontoblástica y se forman durante la dentinogénesis, conservando su estructura en la dentina madura. El volumen de dentina en la Unión Amelodentinaria (UAD) es considerablemente mayor que en la cámara pulpar, lo que hace que los túbulos dentinarios se acerquen durante la dentinogénesis. Esta convergencia de los túbulos en dirección a la cámara pulpar tiene una influencia importante en la estructura y función de la dentina. Así, el diámetro de la luz tubular es diferente según la zona de la dentina. En la proximidad de la pulpa es de 2 a 3  $\mu\text{m}$  y en la UAD es de 0,5 a 0,9  $\mu\text{m}$  aproximadamente (Pashley, 1991; Gómez y Campos, 2001). La combinación de la convergencia de los túbulos hacia la cámara pulpar y el aumento de su diámetro en esa zona es responsable del aumento exponencial de la permeabilidad de la dentina más profunda (Outhwaite y cols., 1976; Pashley, 1991; Gómez y Campos, 2001). Cerca del 80% del volumen total de la dentina próxima a la pulpa está compuesta por canales, mientras que en la dentina periférica el volumen de los mismos sólo representa un 4%. En lo que concierne a la superficie de la dentina, junto a la UAD, la luz de los túbulos representa el 1%, mientras que en la zona próxima a la pulpa ocupa el 22% de la superficie (Pashley, 1985).

En el interior de los túbulos se encuentra el líquido tisular (fluido dentinario) (Gómez y Campos, 2001). El movimiento del líquido desde la pulpa hacia la UAD es resultado de una ligera pero constante presión pulpar (Brännström y cols., 1968; Roberson y cols., 2006). La presión pulpar tiene una magnitud de 25 a 30 mm/Hg ó 34 a 40 cm/H<sub>2</sub>O (Terkla y cols., 1987; Van Hassel, 1971). Esta presión hidrostática

es un factor a tener en cuenta en el estudio de la adhesión, debido a que proporciona un flujo permanente y constante de líquido hacia el exterior (Ciucchi, 1995). Este líquido puede interferir en la adhesión (Roberson y cols., 2006; Toledano y cols., 2003a; Bowen y cols., 1984) ya que las resinas hidrofóbicas, usadas para obturaciones dentales, no adhieren a sustratos hidrofílicos (Roberson y cols., 2006; Torney, 1978).

La dentina peritubular forma la pared de los túbulos dentinarios, mientras que la dentina intertubular se localiza entre los túbulos dentinarios. Es muy importante destacar las diferencias que hay entre ambas. La dentina peritubular tiene un grosor variable (aproximadamente 400 nm en la dentina interna y 750 nm en la dentina externa) (Bhaskar, 1993; Gómez y Campos, 2001). La dentina intertubular está menos calcificada y posee mayor contenido orgánico; se encuentra uniformemente mineralizada, a excepción de la situada en la zona cercana a la pulpa, donde el grado de mineralización es inferior al común (Mjör y Fejerskov, 1989; Bhaskar, 1993). Del volumen de dentina intertubular, la mitad está formada por una matriz orgánica; las fibras de colágeno son su principal componente y se encuentran orientadas al azar alrededor de los túbulos dentinarios. Estas fibras tienen un diámetro que puede variar entre 0,05  $\mu\text{m}$  a 0,2  $\mu\text{m}$  (Mjör y Fejerskov, 1989).

### **I.1.2. Colágeno dentinario.**

El colágeno dentinario presenta unas propiedades físicas y químicas únicas en comparación con el de otros tejidos. Estas propiedades se asemejan a las del colágeno del hueso; esta coincidencia indica similares funciones en los dos casos (servir de matriz para los cristales de apatita). El colágeno es el mayor constituyente de la dentina. Ambos colágenos (óseo y dentinario) son del tipo I y una mínima cantidad del tipo V; el tipo III no aparece en ningún caso. Esta realidad representa una diferencia entre los tejidos blandos y los mineralizados: virtualmente todos los tejidos blandos contienen cantidades significativas de colágeno tipo III (15-50%); de ahí el que las moléculas de colágeno tipo III dirijan la matriz hacia la formación de un enrejado que no es el soporte o iniciador de la mineralización. Una

observación confusa que parece contradecir esta conclusión es la presencia de colágeno tipo III en la matriz extracelular de la dentina reparadora (Osorio y Toledano, 2000).

Otras investigaciones manifiestan las diferencias entre las propiedades físicas y químicas del colágeno del hueso o dentina y el de los tejidos conectivos blandos. El volumen intermolecular que ocupa el colágeno óseo-dentario es el doble que el de los tendones. La matriz colágena dentinaria, por ser orgánica, tiene baja energía superficial y no constituye una superficie apropiada para atraer el material restaurador (Toledano y cols., 2003a).

## **I.2. Adhesión**

Debido a que el término “adhesión” es de uso frecuente en la práctica dental, se hace necesario ajustar su significado para así delimitar los objetivos que se pretenden mediante su empleo.

### **I.2.1. Concepto de adhesión.**

Adhesión es una palabra que proviene del latín *ad* y *haerere* y que significa “unir a”.

El adhesivo es lo que hace posible la adhesión de dos superficies. La superficie a adherir se denomina adherente. El espacio virtual que hay entre las superficies adheridas se denomina interfase. Para que sea posible obtener una buena adhesión tiene que existir una buena humectabilidad y un íntimo contacto entre las superficies a unir (Burke y cols., 1995; Toledano y cols., 2001).

La adhesión se define como el estado en el que dos superficies se mantienen unidas mediante fuerzas o energías interfaciales basadas en



mecanismos químicos, mecánicos o ambos, con la mediación de un adhesivo (ISO/TS 11405: 2003 (E)).

La adhesión, por tanto, puede estar basada en dos mecanismos:

1. Mecanismo mecánico: consiste en el entremezclado del adhesivo solidificado en las irregularidades de la superficie del adherente. Así tenemos adhesión mecánica, que puede ser macromecánica y micromecánica. Se denomina adhesión macromecánica si las irregularidades son apreciables a simple vista; se denomina micromecánica si las irregularidades son microscópicas.

2. Mecanismo químico: consiste en la generación de enlaces químicos entre el adhesivo y el adherente. Los enlaces implicados pueden ser primarios o fuertes (iónicos y covalentes) y secundarios o débiles (uniones por puentes de hidrógeno, interacciones por dipolos y fuerzas de *van der Waals*).

Los diferentes mecanismos de unión no están del todo aclarados y en esa cuestión existe controversia entre los dos tipos básicos de adhesión. De todas formas los dos mecanismos son perfectamente compatibles y, sin duda alguna, pueden darse de forma simultánea.

Existen múltiples factores físicos que influyen en la adhesión, que se desarrollan más adelante en el epígrafe I.3. Fenómenos de superficie que influyen en la adhesión en Odontología. Estos factores son los fenómenos de superficie entre los que se encuentran la tensión superficial (sólidos), la energía de superficie (líquidos), la humectabilidad, el ángulo de contacto y la rugosidad de superficie.

La adhesión no se entiende como la simple aplicación de un pegamento para unir dos superficies. En ocasiones varias, hay que realizar pretratamientos antes de la aplicación del adhesivo. Básicamente, el proceso de unión sigue tres pasos fundamentales:

1 – Acondicionamiento del adherente: consiste en alterar su morfología y/o su estructura química.

2 – Imprimación del adherente: consiste en aplicar una sustancia química previa con el objetivo de hacer el sustrato más receptivo al adhesivo.

3 – Aplicación del adhesivo: consiste en la aplicación del adhesivo sobre la superficie adherente.

En el caso de la Odontología, estos tres pasos no tienen por qué darse siempre de forma diferenciada. Se pueden encontrar de forma simultánea o bien faltar alguno de ellos (Van Meerbeek y cols., 1992; Toledano y cols., 2003a).

En la Odontología Adhesiva entran en juego tres entes o fases: el diente, el material de restauración y el adhesivo. Por consiguiente, siempre se crean dos interfases: sustrato-adhesivo y adhesivo-material de restauración.

## **I.2.2. Adhesión a dentina.**

Para obtener una adecuada adhesión a la dentina es de crucial importancia la permeabilidad que ésta presenta a los agentes adhesivos, así como, que la fase mineral junto con el barrillo dentinario sean removidos para permitir la infiltración de los monómeros de resina del agente adhesivo dentro de la dentina intertubular (Gaston y cols., 1999; Gaston y cols., 2001).

La dentina puede ser descrita como un composite biológico, como se ha podido estudiar más arriba, con un relleno mineral de cristales de hidroxiapatita y una matriz formada por una red de fibras de colágeno (Marshall y cols., 2001). Así, el mecanismo básico de adhesión a dentina es esencialmente un proceso de intercambio que envuelve el reemplazamiento de minerales removidos de los tejidos dentales duros por monómeros de resina que producen un cierre micromecánico en las porosidades creadas (Toledano y cols., 2001; Osorio y cols., 2003). Este cierre fue descrito por primera vez por Nakabayashi y cols., (1982) y es referido comúnmente como “hibridación” o la formación de la capa híbrida.

### **I.2.2.1. Concepto de barrillo dentinario.**

El barrillo dentinario o *smear layer* es un conglomerado de tejido orgánico e inorgánico, subunidades globulares originadas por fibras mineralizadas con un diámetro de 0,05-0,1  $\mu\text{m}$  aproximadamente, proteínas coaguladas, células sanguíneas y en algunas ocasiones microorganismos (Czonstkowsky y cols., 1990; Sen y cols., 1995; Abbott y cols., 1991). El barrillo dentinario resulta de las maniobras terapéuticas practicadas sobre el diente al cortar las superficies de los tejidos mineralizados; además, tiene gran facilidad para adherirse a las paredes de la preparación cavitaria sin poder removerse con una simple aplicación de agua o spray, representando la interfase entre el diente y el material restaurador (Toledano y cols., 2003a). La apariencia ultramorfológica de esta capa vista bajo el microscopio electrónico de barrido es irregular, granular y amorfa (Sen y cols., 1995; Osorio y cols., 2003).

El barrillo dentinario posee un grosor aproximadamente de 1-5  $\mu\text{m}$ , aunque dicho grosor depende del tipo y filo del instrumento usado y de si la preparación de la cavidad de la dentina está seca o húmeda (Van Meerbeek y cols., 1993a). Se ha identificado la capa de barrillo dentinario en dos partes, una es el barrillo superficial y la otra el barrillo compactado dentro de los túbulos dentinarios (Toledano y cols., 2003a). La penetración del material residual dentro de los túbulos es aproximadamente de 40  $\mu\text{m}$  de profundidad, lo que tiene lugar por un fenómeno de capilaridad como consecuencia de las fuerzas adhesivas producidas entre los túbulos dentinarios y el material residual (Sen y cols., 1995; Cohen, 2002).

### **I.2.2.2. Acondicionamiento del tejido dentinario.**

La mayoría de los procedimientos adhesivos se basan en la desmineralización parcial de la dentina con soluciones ácidas para remover el barrillo dentinario, abrir los orificios de los túbulos dentinarios y exponer la matriz de colágeno facilitando la penetración de los monómeros hidrofílicos para formar la capa híbrida (Van Meerbeek y cols., 1993b; Marshall y cols., 2001). La presencia de la red de fibras de colágeno en la dentina desmineralizada aumenta la sensibilidad de la técnica (Prati y cols., 1999). Después de la desmineralización, el agua ocupa

los espacios interfibrilares dejados por la disolución de la fase mineral y mantiene la red de colágeno en un estado expandido; si la dentina se seca, el agua se evapora de los espacios interfibrilares, originando el colapso de la red y reduciendo la dimensión de los espacios necesarios para la infiltración de la resina, disminuyendo así la cantidad de resina infiltrada (Pashley y cols., 1997). Al revés, el exceso de agua en la superficie dentinaria produce la separación de fases en las resinas y la presencia de burbujas microscópicas en la interfase resina-dentina (Tay y cols., 1996a). Estos fenómenos producen una infiltración incompleta de la resina en la dentina desmineralizada y dejan una zona rica en colágeno que puede ser susceptible de hidrólisis facilitando la filtración en estas zonas y la aparición de caries secundarias (Sano y cols., 1995a).

La técnica del grabado total, que consiste en grabar esmalte y dentina simultáneamente, puede alterar la estructura de la matriz de colágeno. Diversos autores han publicado que las fibras de colágeno expuestas son inestables y susceptibles a la degradación proteolítica (Scott y cols., 1974; Agee y cols., 2000), y su durabilidad a lo largo del tiempo es cuestionable (Prati y cols., 1999).

La biodegradación de la matriz de colágeno y/o componentes hidrofílicos de las resinas en la capa híbrida está relacionada con la incompleta penetración/infiltración de la resina adhesiva en el sustrato dentinario (Hashimoto y cols., 2000), la distribución heterogénea de los monómeros de resina a través de la zona de interdifusión (Eliades y cols., 2001), la insuficiente polimerización en la presencia de agua (Tay y Pashley, 2003; Nunes y cols., 2005), cambios en la matriz orgánica durante los procedimientos preparatorios (Spencer y cols., 2001), hidrólisis de los componentes poliméricos (Yourtee y cols., 2001; Toledano y cols., 2007) y colágeno desprotegido (Mazzoni y cols., 2006; Toledano y cols., 2006). (Osorio y cols., 2008)

Diversos estudios han evaluado los efectos del NaOCl en la adhesión a dentina. La aplicación de este agente desproteinizante altera la ultramorfología de la superficie dentinaria grabada removiendo total o parcialmente las fibras de colágeno expuestas, lo que expone una red secundaria de canales laterales y anastomosis, y ensanchando la apertura de los túbulos dentinarios (Perdigão y

cols., 1999). La dentina desmineralizada rica en colágeno es transformada en una estructura porosa, pobre en colágeno, con múltiples irregularidades, permitiendo una buena retención mecánica de las resinas adhesivas al sustrato de dentina modificado (Vargas y cols., 1997; Perdigão y cols., 1999).

Bajo un punto de vista terapéutico, los acondicionadores dentinarios se pueden clasificar de la siguiente forma:

- Ácidos y limpiadores - ácidos (por ejemplo, ácido ortofosfórico), sales metálicas, EDTA. Se emplean como tratamiento previo del esmalte y de la dentina.
- Ácidos primarios autocásticos en combinación con aminoácidos o ácidos - pueden ser dicarbónicos e hidroxietilmetacrilato (HEMA), así como monómeros ácidos y HEMA.

### **I.2.2.3. Remoción del barrillo dentinario.**

Como se ha descrito anteriormente, el barrillo dentinario es una capa de detritos en la superficie de los tejidos dentarios que resulta del corte del diente (Eick y cols., 1970; Oliveira y cols., 2003).

Existe una gran controversia con respecto al barrillo dentinario nacida de las siguientes realidades (Toledano y cols., 2003a):

- a) se ha demostrado que las bacterias pueden vivir y multiplicarse dentro de él, alcanzando la pulpa a través de los túbulos dentinarios;
- b) al cubrir la dentina, el barrillo dentinario puede interferir en los procesos de adhesión con las nuevas generaciones de sistemas adhesivos dentinarios o con los cementos adhesivos.

Los autores partidarios de la conservación del barrillo dentinario se basan en que, si se elimina, desaparece una barrera física que impide la entrada de bacterias a través de los túbulos (Tay y cols., 2000; Sano y cols., 1999; Toledano y cols., 2003b). Al contrario, otros autores son partidarios de eliminar el barrillo dentinario,

pues por la acción del ácido, al desmineralizarse la dentina peritubular, se hace mayor el diámetro de los túbulos, asegurándose posteriormente una mayor entrada de resina (Sen y cols., 1995; Çalt y cols., 2000).

Hoy en día, la conservación o eliminación del barrillo dentinario depende del tipo de adhesivo. En el caso de los sistemas autograbadores, el barrillo dentinario se mantiene incorporándose a la composición de la capa híbrida formada (Tay y cols., 2001; Toledano y cols., 2001; Osorio y cols., 2003). Al contrario, en los sistemas de grabar y lavar (*etch and rinse*), el barrillo dentinario se elimina por medio de un acondicionamiento de la dentina realizado con ácido (Van Meerbeek y cols., 1998).

#### **I.2.2.4. Grabado ácido de la dentina y colapso del colágeno.**

El grabado ácido de la dentina se usa como primer paso en la preparación de la superficie dentinaria en las técnicas adhesivas. El objetivo es mejorar la adhesión en una variedad de procedimientos en Odontología Preventiva y Restauradora. La presencia del barrillo dentinario, creado durante la preparación de la cavidad, tiene un efecto perjudicial en la adhesión a dentina y se recomienda su remoción con un agente ácido (Hansen y cols., 1997). Los agentes grabadores eliminan la hidroxiapatita y exponen la red de fibras de colágeno, así, los adhesivos hidrofílicos pueden penetrar en esta red e infiltrarse entre las fibras de colágeno originando la capa híbrida, que es un tejido híbrido con fibras de colágeno impregnadas de resina polimerizada y cristales residuales de hidroxiapatita (Nakabayashi y cols., 1991; Van Meerbeek y cols., 1993a). La infiltración de los monómeros de resina en la dentina acondicionada químicamente es considerada de primordial importancia para mejorar la adhesión en la interfase dentina/resina (Gwinnett, 1993).

El grabado ácido de la dentina hace que las fibras de colágeno queden sin soporte mecánico; el agua, que está atrapada en los nanospacios entre las fibras de colágeno adyacentes es lo que impide el colapso de las fibras (Hansen y cols., 1997). La presencia o no de humedad en la superficie de la dentina grabada puede condicionar el resto de la técnica restauradora. El agua presente en el

procedimiento adhesivo puede proceder del fluido dentinario, de un estado de humedad relativa atmosférica, de las irrigaciones y del sistema adhesivo. La presencia del agua durante la fase inicial de la infiltración intertubular es de primordial importancia para el desarrollo de la técnica adhesiva. El agua, en términos generales, favorece la remoción del barrillo dentinario, tiene una acción reblandecedora del colágeno, permite una exposición mayor de *locus* para unir al colágeno, mejora la acidez del medio y la capacidad quelante de los preparados que se puedan añadir a tal fin, previene la excesiva deshidratación que pueden originar las técnicas adhesivas y limita la desmineralización de la dentina, como puede ocurrir tras el empleo de ácidos muy agresivos (Toledano y cols., 2003a).

Sin embargo, la técnica adhesiva a una superficie húmeda es muy difícil de estandarizar clínicamente, lo que la hace muy sensible a errores de manipulación clínica (Van Meerbeek y cols., 1998).

Así, tenemos dos protocolos de adhesión (Toledano y cols., 2003a):

- Técnica seca de adhesión - protocolo donde se parte de un estado deshidratado de la dentina.
- Técnica húmeda de adhesión - protocolo por el que se parte, tras el acondicionamiento, de un estado hidratado de dentina, o de rehidratación de la dentina seca.

En la técnica seca de adhesión, el secado con aire (Pashley y cols., 2000) puede causar el colapso de las fibras de colágeno expuestas después del grabado, lo que hace la difusión de los monómeros hidrofóbicos y la impregnación de la superficie más difícil (Toledano y cols., 2003a).

Se ha demostrado que la unión a este sustrato colapsado es de muy baja calidad, por lo que no representa ningún interés en clínica (Gwinnett, 1992; Kanca, 1992; Gwinnett, 1994a; Tay y cols., 1996b; Toledano y cols., 2003a). Una de las consecuencias inmediatas de este estado de adhesión deficiente es el paso de sustancias (iones, moléculas, toxinas, microorganismos, etc.) a través de esta

interfase (capa híbrida), fenómeno conocido como nanofiltración. Este fenómeno consiste en una difusión imperfecta del monómero adhesivo a través de las fibras de colágeno desmineralizado, dejando una zona porosa bajo la capa de resina por donde discurre el frente de filtración. Esto puede dar inicio a la hidrólisis del colágeno y posterior degradación de los adhesivos (Toledano y cols., 2003a).

En la técnica húmeda de adhesión, al dejar la dentina húmeda, se permite la formación de una capa de colágeno más porosa y apta para la adhesión, facilitando la penetración completa de los monómeros adhesivos, y aumentando así la fuerza de unión. Esta técnica ha proporcionado muy buenos resultados en clínica, al usar sistemas adhesivos basados en acetona o etanol, en dentina húmeda. En esta técnica, la capacidad del *primer* para difundirse a través de la capa rica en colágeno es de una importancia capital. Los monómeros, durante la impregnación, se difunden más rápidamente sobre dentina húmeda desmineralizada que sobre dentina seca.

El mayor problema que plantea la técnica húmeda es conocer el grado de humedad que hay que darle a la dentina para que dicha técnica sea efectiva, pues se corre el riesgo de obtener una dentina sobremojada. En situaciones de sobremojado, la infiltración y la hibridación pueden no llegar a ocurrir, ocasionando escasa o nula adhesión de la resina, con el consiguiente fallo terapéutico (sensibilidad dentinaria, microfiltración...) (Toledano y cols., 2003a).

La prevención del colapso de la red de colágeno es de gran importancia en la optimización de la adhesión a dentina; así, algunos estudios se han centrado en la remoción de esta red desmineralizada (Toledano y cols., 1999a). El motivo principal es el cambio espacial que ocurre después del secado de la dentina desmineralizada, que puede impedir que los monómeros penetren en los nanoconductos formados por la disolución de los cristales de hidroxiapatita (Eick y cols., 1997).

La función de las fibras de colágeno en la adhesión a dentina ha sido cuestionada. Algunos autores han publicado que el colágeno de la dentina no contribuye a la adhesión de la interfase dentina-resina y puede interferir debido a la



débil estructura que presentan las fibras de colágeno después del grabado ácido (Inaba y cols., 1995; Vargas y cols., 1997). Además, la estabilidad de la adhesión, basada en estructuras proteicas, a lo largo del tiempo no está clara (Gwinnett, 1994b; Sano y cols., 1999; Carvalho y cols., 2000). Por lo tanto, la remoción de las mismas puede tener un efecto benéfico en la difusión de los *primers* y de los adhesivos en la dentina (Prati y cols., 1999) y facilitaría el acceso de las resinas adhesivas a un sustrato más permeable (Inaba y cols., 1995).

Así, para evitar los potenciales problemas de tener fibras de colágeno desprotegidas, se sugirió el uso del hipoclorito de sodio (NaOCl) después del grabado ácido para la remoción de la red de colágeno, antes de la aplicación del sistema adhesivo en la dentina (Fuentes y cols., 2004; Prati y cols., 1999; Vargas y cols., 1997).

El NaOCl tiene un efecto proteolítico no específico que remueve de forma eficaz componentes orgánicos de la dentina (Yamauti y cols., 2003; Marshall y cols., 2001; Inaba y cols., 1996) e iones de magnesio y de carbonato (Marshall y cols., 2001; Sakae y cols., 1988). Además, la solución de NaOCl ha sido utilizada como sustituta de enzimas proteolíticas (Yamauti y cols., 2003; Spencer y Swafford, 1999; Nakabayashi y Saimi, 1996). Utilizando el NaOCl se consigue disolver las fibras de colágeno desprotegidas.

Después de la aplicación del hipoclorito, la dentina se vuelve más porosa con múltiples irregularidades capaces de permitir retención mecánica (Vargas y cols., 1997; Perdigão y cols., 1999; Fuentes y cols., 2003). La remoción de las fibras colágenas puede dar lugar a una superficie dentinaria similar a la superficie del esmalte grabado (Sakae y cols., 1988), pudiéndose producir una interfase estable a lo largo del tiempo, ya que la superficie dentinaria sería esencialmente mineral. Se ha propuesto la hipótesis de la existencia de una interacción química entre esta dentina tratada con hipoclorito y los monómeros de resina (Gwinnett, 1994b).

### I.2.2.5. Imprimación.

La interacción entre los tejidos y los biomateriales a nivel de las interfases biológicas es de extrema importancia, pues es muy difícil conectar tejidos naturales y materiales artificiales. La unión de las resinas a los tejidos mineralizados dentales constituye un buen ejemplo de ello. Para que haya una conexión entre el biomaterial (monómero) y el tejido duro se utiliza un líquido que va a penetrar en el tejido duro y por un cambio reológico, debido a la polimerización, cambia a sólido.

La adhesión química sobre la superficie dentinaria se obtiene mediante la aplicación de los llamados imprimadores o *primers*. Este término describe el agente intermedio que se aplicará, sin que se elimine posteriormente, sobre la superficie dentinaria antes de colocar la resina adhesiva.

La imprimación se lleva a cabo mediante monómeros diacrilatos y disolventes, así como monómeros con grupos funcionales hidrófilos. Se secan *in situ* después de ejercer su efecto. Reaccionan con las estructuras de la dentina implicadas y enriquecen dicha superficie con grupos metacrilato hidrófobos, haciendo la dentina compatible para una unión con el propio adhesivo dentinario. Los *primers* más frecuentemente utilizados están compuestos de soluciones que contienen agua, alcohol o acetona. La remoción incompleta del solvente (hidrofílico) podría interferir con la resina fluida (hidrofóbica) y dificultar la unión; por eso, se aconseja secar con aire el sustrato imprimado, para que el solvente del *primer* pueda evaporarse completamente (Toledano y cols., 2003a).

El papel azeotrópico ejercido por los solventes volátiles (acetona o etanol) en la promoción del desplazamiento del agua de la superficie dentinaria, permitiendo la difusión de resina, está bien establecido (Osorio y cols., 2008; Monticelli y cols., 2007; Tay y cols., 1996c). La acetona es considerada extremadamente volátil (Osorio y cols., 2008; Glavchev y cols., 2003) y un buen solvente para los metacrilatos (Zhou y cols., 2001). La rápida evaporación de la acetona del sistema adhesivo produce dos cambios esenciales: una disminución en la afinidad solvente-resina y la formación de una fase rica en monómero, que puede promover uniones cruzadas (You y cols., 2005; Yip y McHugh, 2005).

En términos generales los *primers* se usan para mejorar la humectabilidad de las superficies y promover la penetración del agente adhesivo dentro de las microporosidades de la superficie. Otra función de estos preparados es la de ayudar a la reexpansión del colágeno. Las moléculas del *primer* tienen dos grupos funcionales diferentes: uno, con afinidad por la superficie (hidrofilico), y otro (hidrofóbico - metacrilato), con afinidad por los materiales adhesivos; por eso, también son conocidos como “promotores” de la adhesión.

La penetración de los *primers* en la red de colágeno no se hace totalmente a través de los espacios generados en la dentina intertubular, tras el grabado ácido, pues las zonas de colágeno colapsado y los restos del barrillo dentinario dificultan esa infiltración (Toledano y cols., 2003a).

### **I.2.3. Sistemas adhesivos. Clasificación y características.**

Un sistema adhesivo es el conjunto de materiales que sirven para realizar todos los pasos de la adhesión del material restaurador al diente, como son la preparación de la superficie del esmalte y dentina, adhesión química y/o micromecánica al esmalte y dentina, y adhesión química al material restaurador. La incapacidad de las resinas compuestas para adherir directamente a los sustratos dentales, hizo que la aplicación de un sistema adhesivo fuera un paso intermedio indispensable en los procedimientos clínicos donde se utilizasen esos materiales. A raíz de lo descrito hasta ahora, por tanto, el procedimiento adhesivo está constituido por tres pasos (Toledano y cols., 2003a):

- grabado ácido – tiene la finalidad de modificar química y morfológicamente la estructura del esmalte y de la dentina para permitir a los siguientes materiales adherirse mecánica y químicamente a ella. En términos generales, al ácido acondicionador se le exige que sea isotónico para evitar cambios en la presión osmótica, tenga pH neutro o entre 5,5 y 8,0, no sea tóxico ni irritante para la pulpa y tejido gingival, sea compatible con la química de los agentes cementantes, sea soluble en

agua y fácil de remover, así como generar cambios químicos favorables en esmalte y dentina.

- imprimación – el imprimador o *primer* penetra y moja la zona descalcificada para facilitar el contacto de la resina adhesiva con el colágeno desmineralizado. Sus funciones son mejorar la humectabilidad de la dentina acondicionada, impedir el colapso de las fibras de colágeno, mantenerlas separadas entre sí y facilitar la impregnación de la resina adhesiva hacia el interior de la dentina descalcificada (Titley y cols., 1995; Tani y cols., 1996; Perdigão y cols., 1997; Toledano y cols., 2001). Por eso se les conoce como promotores de la adhesión (Toledano y cols., 2003a). Los *primers* más frecuentemente utilizados están compuestos de soluciones que contienen agua, alcohol o acetona.
  
- aplicación del adhesivo – resina que se disuelve con el imprimador y penetra en la dentina, sirviendo de puente entre las dos superficies a adherir, la dentina y el material restaurador. Además, la resina adhesiva confiere una flexibilidad y resistencia adecuadas a la zona de dentina infiltrada. La capa híbrida tiene un módulo de elasticidad intermedio entre la resina compuesta y la dentina; esta unión elástica puede aliviar los estreses entre la contracción de la restauración de resina compuesta y el rígido sustrato dentinario. La resina es resistente a la compresión y las fibras colágenas, a pesar de su flexibilidad, como no pueden extenderse demasiado, ofrecen una gran resistencia a la tracción.

Los adhesivos dentinarios se pueden clasificar de muchas formas. Una de las más utilizadas se basa en la cronología de aparición de estos materiales en el mercado separando los adhesivos en generaciones. No obstante, este tipo de clasificación no evidencia el número de pasos clínicos necesarios a la aplicación de un adhesivo, ni tampoco como interactúan con el sustrato (Van Meebeek y cols., 1992). Actualmente, la forma más aceptada y clara de clasificar los adhesivos, es la diseñada por Van Meerbeek y cols. (1992), quienes establecieron una clasificación según el mecanismo de acción y el número de pasos necesarios a su aplicación:

- Adhesivos que eliminan el barrillo dentinario (grabar y lavar)
  - Adhesivos de tres pasos
  - Adhesivos de dos pasos
  
- Adhesivos que disuelven el barrillo dentinario
  - Adhesivos de dos pasos
  - Adhesivos de un paso (*all in one*)
  
- Adhesivos que modifican el barrillo dentinario
  - Adhesivos de dos pasos
  - Adhesivos de un paso

### **I.2.3.1. Adhesivos que eliminan el barrillo dentinario (grabar y lavar).**

Estos adhesivos, también conocidos como sistemas de grabar y lavar (o *etch and rinse*), conocidos al principio como de grabado total, acondicionan la dentina con un ácido que retira la totalidad del barrillo dentinario (Van Meebeek y cols., 1992).

#### a) Adhesivos de tres pasos.

La mayoría de los adhesivos utilizados en la actualidad están basados en el mecanismo de acción de los adhesivos de tres pasos. Son sistemas que constan de tres componentes que se dispensan por separado (Van Meerbeek y cols., 1998) requiriendo así tres pasos clínicos. El primer paso es la aplicación de un ácido que elimina todo el barrillo dentinario, después se enjuaga la dentina grabada y se aplica un *primer*. A continuación, se aplica una resina adhesiva.

Estos sistemas plantean tres importantes complicaciones:

1. El paso separado de grabar, lavar y secar la dentina incrementa la sensibilidad de la técnica, especialmente, si hablamos de una técnica húmeda (Tay y cols., 2000; Toledano y cols., 2001; Toledano y cols., 2003a) como se ha descrito anteriormente;

2. La necesidad que presentan estos sistemas de secar tras enjuagar con agua, provoca un colapso de las fibras de colágeno (Gordan y cols., 1998; Toledano y cols., 2005);

3. La profundidad de desmineralización creada por el ácido es mayor que la infiltración producida por los monómeros hidrofílicos del *primer* (Nakabayashi y cols., 1996; Tay y cols., 2001; Osorio y cols., 2003), dejando expuestas fibras de colágeno, que así quedan desprotegidas, tornándose susceptibles a la hidrólisis (Watanabe y cols., 1994; Burrow y cols., 1996; Sano y cols., 1999; Toledano y cols., 2000).

En este grupo se encuentran adhesivos tan famosos como el Scotch Bond Multipurpose<sup>®</sup> (3M, St. Paul, MN, USA) o el All Bond 2<sup>®</sup> (Bisco, Istaasca, USA).

#### b) Adhesivos de dos pasos.

Los adhesivos de dos pasos son los que constan de dos componentes. En el primer paso se aplica un acondicionador ácido que tras su aplicación es enjuagado con la consiguiente eliminación total del barrillo dentinario. En el segundo paso, se aplica un sistema adhesivo, donde va incluido el imprimador (*primer*) y la resina adhesiva. Estos sistemas adhesivos también son conocidos como adhesivos autoimprimadores, pues combinan en un solo paso el *primer* y la resina adhesiva (Toledano y cols., 2001; Osorio y cols., 2003).

Se pueden considerar en este grupo adhesivos como el Excite<sup>®</sup> (Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein), Single Bond<sup>®</sup> (3M, St. Paul, MN, USA) o el Prime & Bond NT<sup>®</sup> (Dentsply / De Trey GmbH, Konstanz, Germany) que es el objeto de parte de nuestro estudio.

### I.2.3.2. Adhesivos que disuelven el barrillo dentinario.

Se trata de adhesivos que disuelven el barrillo dentinario y simultáneamente desmineralizan la superficie del sustrato (Van Meerbeek y cols., 1992). Como no son lavados, el barrillo se incorpora al proceso de adhesión reduciéndose los problemas asociados a la sensibilidad de la técnica (Fritz y cols., 1999; Toledano y cols., 2001). Los sistemas adhesivos que constan de uno o dos pasos y disuelven el barrillo dentinario son conocidos actualmente como autograbadores (Van Meerbeek y cols., 1993a; Toledano y cols., 2001).

#### a) Adhesivos de dos pasos.

Son sistemas formados por dos botes. El primer paso consta de un imprimador y un ácido juntos, que disuelven el barrillo dentinario tras ser aplicados en esmalte y dentina conjuntamente (Van Meerbeek cols., 1993a; Toledano y cols., 2001). El imprimador incorpora el barrillo dentinario a su composición. Tras este paso se aplica una resina adhesiva.

Los adhesivos autograbadores producen un complejo híbrido que incluye una capa superior de *smear layer* infiltrado y una capa inferior de fibras de colágeno desmineralizadas e infiltradas, mezclada con grupos calcio y fosfato producto de la desmineralización de la hidroxiapatita (Tay y cols., 2000). El uso de esos sistemas adhesivos representa un método bastante eficaz para prevenir el colapso de la trama de colágeno desmineralizado (Tay y cols., 2001; Osorio y cols., 2003). Cuando estos sistemas adhesivos se emplean, no hay necesidad de grabar, enjuagar y secar el sustrato, por lo que desaparece el riesgo de sobregrabar y sobresecar la dentina (Tay y cols., 2001; Toledano y cols., 2003b). Además, el problema presentado por los sistemas adhesivos de grabar y lavar al producir una desmineralización mayor que la infiltración realizada por los monómeros hidrofílicos, se ha solventado en gran medida (Toledano y cols., 2001; Osorio y cols., 2003).

Son representantes de este grupo el Clearfil SE Bond® (Kuraray Co, Osaka, Japan), Syntac® (Vivadent, Schaan, Liechtenstein) o el Coltène ART Bond® (Coltène, Altstätten, Switzerland).

b) Adhesivos de un paso (*all in one*).

Los adhesivos *all in one* (todo en uno) son adhesivos que constan de un solo paso. Incorporan en el mismo bote los monómeros ácidos, hidrofílicos e hidrofóbicos. Estos materiales disuelven el barrillo y simultáneamente desmineralizan la superficie del sustrato (Van Meerbeek y cols., 1992). Como no deben ser lavados, el barrillo se incorpora a la capa híbrida, formando parte de ésta (Fritz y cols., 1999; Santini y cols., 2001; Toledano y cols., 2001).

Existe unanimidad en asumir las bajas fuerzas de adhesión proporcionadas por los *all in one* (Toledano y cols., 2001; Osorio y cols., 2003; Osorio y cols., 2005; Perdigão J., 2007; Soderholm y cols., 2008; Brackett y cols., 2008). La combinación de monómeros ácidos, hidrofílicos e hidrofóbicos en una solución única, puede comprometer la función de cada uno de los componentes (Toledano y cols., 2003b). Sin embargo, son capaces de disolver completamente el barrillo dentinario y formar un complejo híbrido relativamente grueso (Haller, 2000; Toledano y cols., 2003b; Osorio y cols., 2003).

Forman parte de este grupo los adhesivos Prompt L-Pop<sup>®</sup> (3M ESPE, Seefeld, Germany), Etch and Prime 3.0<sup>®</sup> (Degussa AG, Hanau, Germany), One-Up Bond F<sup>®</sup> (Tokuyama, Tokyo, Japan), Reactmer Bond<sup>®</sup> (Shofu, Kyoto, Japan) o Xeno IV<sup>®</sup> (Dentsply Caulk, Milford, Del.), iBond<sup>®</sup> (Heraeus Kulzer, Hanau, Germany), Optibond All-In-One<sup>®</sup> (Kerr, Orange, California).

### 1.2.3.3. Adhesivos que modifican el barrillo dentinario.

Los sistemas adhesivos que modifican el barrillo dentinario son sistemas que hacen el barrillo dentinario más poroso para que la resina acceda a la dentina subyacente (Toledano y cols., 2003a).



## a) Adhesivos de dos pasos.

Los adhesivos de dos pasos constan de un bote que se aplica primero que es un *primer* con radicales acidófilos que modifican el barrillo dentinario; el segundo bote es el que contiene la resina adhesiva (Toledano y cols., 2003a). Una vez que los monómeros polimerizan en el espesor del barrillo dentinario se establecen uniones químicas y micromecánicas leves, que refuerzan la nueva estructura, así como su unión a la estructura subyacente (Van Meerbeek y cols., 1992).

De igual modo que los sistemas adhesivos que disuelven el barrillo dentinario, los que solo lo modifican consideran el *smear layer* como una barrera natural contra la penetración de bacterias al interior de la cámara pulpar, al mismo tiempo que dificulta la salida del líquido intratubular a la superficie de la dentina, lo que podría modificar la técnica adhesiva (Toledano y cols., 2003a).

Adhesivos pertenecientes a este grupo son por ejemplo el Pentra Bond II<sup>®</sup> (Jeneric/Pentron, Wallingford, CT, USA) o el ProBond<sup>®</sup> (Detrey-Dentsply, Konstanz, Germany).

## b) Adhesivos de un paso.

Estos son adhesivos que tienen un solo bote compuesto de una resina adhesiva mezclada con ácidos débiles, que se aplica sobre el barrillo dentinario y la dentina. La resina modifica el barrillo dentinario para poder infiltrarlo y acceder a la dentina subyacente, por lo tanto, mediante este procedimiento no tiene lugar la exposición de las fibras de colágeno como resultado del grabado ácido (Toledano y cols., 2003a).

Como miembros de este grupo se presentan el Ariston Liner<sup>®</sup> (Vivadent, Schaan, Liechtenstein), Hytac<sup>®</sup> (3M ESPE, Seefeld, Germany), Compoglass<sup>®</sup> (Vivadent, Schaan, Liechtenstein) o el Solist<sup>®</sup> (DMG, Hamburg, Germany).

#### I.2.4. Estudio de la resistencia adhesiva.

Los ensayos de resistencia adhesiva son un método muy utilizado y fiable para la determinación de la eficacia de la adhesión de materiales restauradores a la estructura dental. La popularidad de este tipo de ensayo puede ser atribuida a su simplicidad y eficacia en las evaluaciones *in vitro* de los nuevos sistemas adhesivos. Además, se cree que las tensiones de cizallamiento son las principales tensiones implicadas en los fallos adhesivos *in vivo* de los materiales restauradores (Watanabe y cols., 2000).

Las pruebas de fuerzas de adhesión son las más usadas para evaluar y cuantificar la eficacia adhesiva de diferentes materiales. La base de este método es que la adhesión más fuerte entre el diente y el biomaterial, resistirá mejor el estrés impuesto por el sistema y la función oral (Pashley y cols., 1995).

A lo largo del tiempo, se han desarrollado diversos ensayos para evaluar las fuerzas adhesivas (Pashley y cols., 1995). La fuerza producida en los sistemas adhesivos dentinarios se ha evaluado tradicionalmente usando el test de resistencia al cizallamiento o *shear bond strength* (SBS), método que resulta útil para probar materiales que fallan con valores comprendidos entre 18-20 MPa, o menos (Chappell y cols., 1994). Sin embargo, en valores que exceden los 18-20 MPa, a menudo no permiten diferenciar entre la fuerza del adhesivo y la fuerza cohesiva de la resina compuesta o la dentina (Chappell y cols., 1994). De esta manera, se creó el test de microtensión para evaluar la resistencia adhesiva que fue introducida por Sano y cols. (1995b), aunque se trata de una técnica muy laboriosa.

Para la determinación de las fuerzas de resistencia adhesiva, en este estudio, se realizaron ensayos de resistencia adhesiva al cizallamiento.

Investigadores en este área han utilizado varios métodos de evaluación de las resistencias adhesivas a lo largo del tiempo generando la obtención de valores diferentes según la metodología empleada (CRA Newsletter, 2002). Uno de los aspectos esenciales para una estandarización del método y un requisito clave

para un ensayo de resistencia adhesiva *in vitro* controlado, es la aplicación de la tensión de cizallamiento en un solo plano.

Desafortunadamente, la mayoría de los métodos no satisfacen este criterio, induciendo fuerzas de torsión en la interfase, que dan lugar a un ensayo con una complejidad de tensiones y de fuerzas indeterminadas (Watanabe y cols., 2000).

En este trabajo fue utilizado un sistema desarrollado en la Universidad de California: el *Single-Plane Shear Test Assembly (SPSTA)*. Este sistema minimiza la creación de tensiones complejas, aplicando la tensión sobre la zona de adhesión en un solo plano (Watanabe y cols., 2000).

Este método consiste en un sistema simple de dos placas de un material polimérico. Las dos placas son fijadas a cadenas flexibles acopladas a una máquina universal de ensayos y sometidas a fuerzas de tracción (Watanabe y cols., 2000), lo que quedará desarrollado en el epígrafe III.3. Caracterización de la interfase del capítulo de Material y Métodos.

### **I.3. Fenómenos de superficie que influyen en la adhesión en Odontología**

En la naturaleza, la materia se encuentra distribuida en fases que son porciones homogéneas de sustancia separadas entre sí por superficies. Normalmente se estudia la materia contenida dentro de cada fase, sus propiedades, su comportamiento, etc., ya que la materia en la superficie es muy pequeña (salvo excepciones, como ocurre en una dispersión o en una pompa de jabón). Pero se debe tener en cuenta que las superficies poseen propiedades peculiares que influyen en procesos como el de la adhesión (Toledano y cols., 2003a).

Las posibles fases en contacto son líquido con gas, líquido con sólido o con otro líquido, sólido con gas o sólido con otros sólidos. La más importante en

Odontología y en el estudio que vamos a realizar es el contacto entre líquidos y sólidos, ya que será el agua y el sistema adhesivo (líquido) el que entre en contacto con la dentina (sólido) (Toledano y cols., 2003a).

Todo sistema tiende espontáneamente a distribuir su volumen exponiendo la menor cantidad de superficie para tener mayor estabilidad. Por ejemplo, cuando se ponen en contacto dos gotas de un mismo líquido tienden a unirse para formar otra mayor y reducir así la relación superficie/volumen. Si esto no ocurriera, los líquidos tenderían a dividirse en gotitas cada vez más pequeñas sin existir cohesión alguna.

A la zona de contacto entre dos superficies se le llama interfase. Las propiedades que se dan en la interfase son los fenómenos de superficie o propiedades superficiales. Estos fenómenos están íntimamente relacionados entre sí e incluyen la tensión superficial, la energía superficial, la humectabilidad o capilaridad, la adsorción y la adhesión (O'Brien, 1997). Sobre ellos influyen características del propio líquido como son la temperatura o la viscosidad de la sustancia. Estas propiedades son importantes en diversos procesos en Odontología, como es la adhesión a los tejidos dentales. Los fenómenos de superficie son característicos de las fases condensadas, especialmente de los líquidos, ya que por su elasticidad de forma, en ellos se da lugar a una serie de fenómenos típicos (Toledano y cols., 2003a).

En cuanto al tejido dental, los fenómenos de superficie tienen una gran importancia debido a que la dentina presenta una estructura muy compleja. Se compone de colágeno, que tiene una baja energía superficial; e hidroxiapatita, que tiene una alta energía superficial (Toledano y cols., 1999a; Akinmade y Nicholson, 1993). Después del grabado ácido, la rugosidad de la dentina aumenta (Kinney y cols., 1995; Marshall y cols., 1995; Marshall y cols., 1993); así que se espera una disminución del ángulo de contacto (Wenzel, 1936). Como sabemos, la energía superficial es mayor cuanto mayor sea la superficie (O'Brien, 1997). Sin embargo, después del grabado ácido la energía de superficie disminuye por la exposición de las fibras colágenas y por la pérdida de contenido mineral.

A continuación se estudiará la tensión superficial, la humectabilidad, la penetración capilar, la viscosidad, la temperatura y la forma en que estas propiedades físico-químicas afectan la relación del adhesivo con la dentina.

### I.3.1. Tensión superficial y energía de superficie.

Como se ha descrito anteriormente, la atracción molecular se produce en una sustancia formando como una especie de membrana tensa que ejerce fuerza hacia el interior y que actúa como una piel, resistiendo a la extensión o la penetración (O'Brien, 1997). Esta membrana es la tensión superficial y es responsable tanto de la forma como de la deformación que adquieren los fluidos en la interfase (Toledano y cols., 2003a).

Experimentalmente se ha visto que para aumentar la superficie de un líquido hay que efectuar un trabajo sobre el mismo y que éste trabajo es proporcional al incremento del área superficial (Diaz Peña, 1989, Toledano y cols., 2003a):

$$dW = \gamma dA \quad (1)$$

donde:

$dW$  = incremento de trabajo

$\gamma$  = constante = tensión superficial

$dA$  = incremento de la superficie

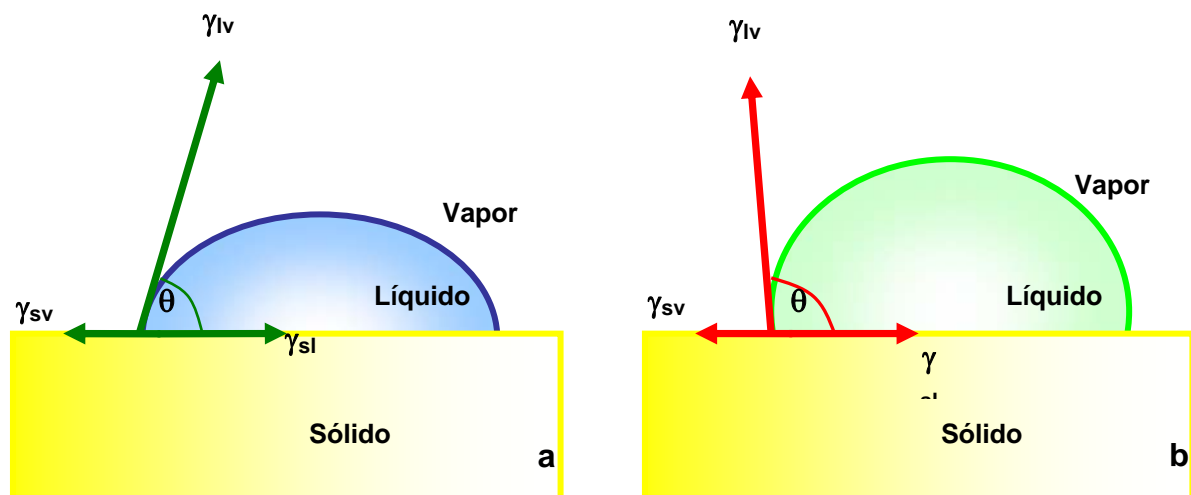
Toda sustancia posee una energía superficial. Los átomos y las moléculas en la superficie de los líquidos y sólidos poseen más energía que aquellos que se encuentran en el interior (O'Brien, 1997; Macchi, 2007). En el caso de los líquidos esta energía se llama tensión superficial y en caso de los sólidos esta energía se llama energía superficial (O'Brien, 1997).

Así, tensión superficial es la energía libre adicional que los átomos o moléculas de la superficie de una sustancia tienen sobre aquellas que se

encuentran en el interior (O'Brien, 1997). Por lo tanto, la tensión superficial se puede definir como la fuerza por unidad de longitud (mN/m), o bien, como la energía libre por unidad de superficie (mJ/m<sup>2</sup>) (Toledano y cols., 2003a).

El término tensión superficial se suele utilizar cuando una de las fases en la interfase es gaseosa, mientras que el término tensión interfacial se mantiene en general para definir cualquier tipo de interfase líquido-gas, líquido-líquido o líquido-sólido (Toledano y cols., 2003a).

Matemáticamente, la tensión interfacial se puede describir con una ecuación. Supóngase que se coloca una gota de líquido sobre una superficie sólida (fig. 1), el líquido quedará en una posición de equilibrio debido a su relación con el sólido y con el gas. Existirán tres fases (sólido, líquido y gas) que estarán en contacto.



**Fig. 1.** Equilibrio entre las interfases sólido-vapor, sólido-líquido y líquido-vapor de dos líquidos con distinta humectabilidad expresado en su ángulo de contacto ( $\theta$ ). Para una misma superficie dada (a) los líquidos que presentan ángulos de contacto pequeños muestran mayor humectabilidad que (b) líquidos que ofrecen ángulos de contacto grandes que determinan una baja humectabilidad.

Esta situación viene definida por una ecuación, la ecuación de Young, que establece el equilibrio entre las tres interfases sólido-vapor, sólido-líquido y líquido-vapor. El equilibrio viene dado por:

$$\gamma_{SV} - \gamma_{SL} = \gamma_{LV} \cos\theta \quad (2)$$

donde:

$\gamma_{SV}$  = tensión interfacial de la interfase sólido-vapor

$\gamma_{SL}$  = tensión interfacial de la interfase sólido-líquido

$\gamma_{LV}$  = tensión interfacial de la interfase líquido-vapor

$\theta$  = ángulo de la tangente a la gota en el punto de contacto entre el sólido y el líquido, que por definición, corresponde al ángulo de contacto

Esta ecuación tiene gran importancia, ya que establece que las tensiones interfaciales son propiedades de equilibrio, y esto sirve como base para poder explicar los fenómenos interfaciales más comunes como la adsorción, la extensión, el mojado y la adhesión. La ecuación es válida siempre que tengamos definidos los valores de equilibrio de los parámetros interfaciales, lo que no sucede en el caso de que la superficie no sea plana, lisa, isótropa, homogénea (Toledano y cols., 2003a).

Entre los métodos que pueden dar medida de la tensión superficial, se encuentra el basado en la geometría de la gota. Este método ofrece grandes ventajas respecto al resto de las técnicas convencionales:

- Se necesitan pequeñas cantidades de líquido para su realización
- Se puede aplicar tanto a interfases líquido-vapor como a interfases líquido-líquido
- Permiten aislar la interfase del exterior, evitándose la contaminación ambiental y, además, pudiéndose llevar un control de la temperatura tan importante en la medida de la tensión interfacial.
- El sistema no interfiere en la interfase, lo que permite tener una medida más exacta de los parámetros interfaciales (Holgado, 1996).

El procedimiento experimental en las técnicas basadas en la geometría de la gota se basa en la formación de dos tipos de gotas: sésil y pendiente, que constituyen dos interfases curvas estáticas clásicas, para posteriormente evaluar la geometría de las mismas. La gota sésil se obtiene al depositar una pequeña

cantidad de líquido sobre una superficie, mientras que la gota pendiente se obtiene suspendiendo una gota en el extremo de un capilar.

En lo que respecta al sistema adhesivo que pueda usarse para la adhesión, interesa que su tensión superficial sea baja y siempre menor que la energía de superficie de la dentina acondicionada para que se mejore la humectabilidad (McCabe, 2006; Combe, 1990; Macchi, 2007), ya que así el líquido “se dejará atraer” por el sólido para entrar en un contacto mayor con él.

### I.3.2. Humectabilidad.

Si la tensión superficial es una propiedad individual e independiente de cada sustancia (O’Brien, 1997), la humectabilidad, al contrario, implica dos superficies que se relacionan entre sí en función, claro está, de la tensión superficial y/o energía superficial libre de cada sustancia. Esta propiedad es característica cuando se relacionan dos líquidos o un sólido y un líquido, siendo este último supuesto lo que nos interesa.

La humectabilidad indica el grado de extensión que una gota de líquido puede tener sobre una superficie sólida. Está influenciada, como ya hemos dicho, por la tensión superficial que tenga el líquido y por la energía superficial que tenga el sólido.

Esta humectabilidad del líquido sobre el sólido se puede cuantificar midiendo el ángulo ( $\theta$ ) que forma la gota con la superficie (Reisbick, 1985; Macchi, 2007; Skinner, 1993; O’Brien, 1997). Éste ángulo es el ángulo de contacto (fig. 2). Cuanto mayor sea

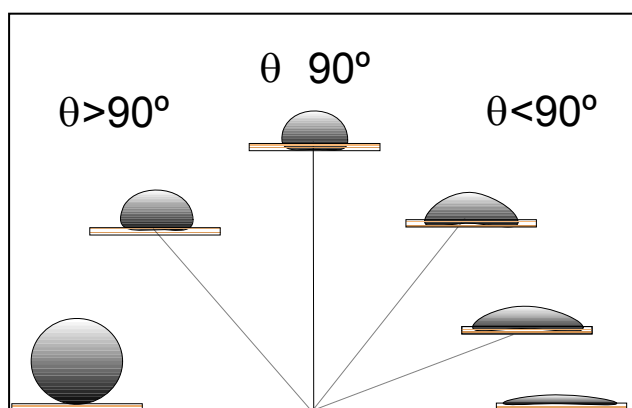


Fig. 2. Diferentes ángulos de contacto ( $\theta$ )



un ángulo de contacto, menor es la humectabilidad o capacidad de mojar la superficie de un cuerpo (en éste caso la dentina). Aquellos líquidos que superan los  $90^\circ$  indican un mal mojado (O'Brien, 1997).

Al entrar en contacto un sólido y un líquido se produce una relación entre ambos. El sólido no puede modificar ni su área ni su forma, por lo que será el líquido el que modifica su forma para adaptarse a la energía que el sólido posee en su superficie (Díaz Peña, 1989). Si la interacción entre las moléculas del sólido y las del líquido son mayores que las del sólido/sólido y que las del líquido/líquido, éste tenderá a cubrir (mojar) lo máximo posible al sólido, ya que se da una situación energéticamente favorable, formándose un ángulo de contacto menor de  $90^\circ$  (O'Brien, 1997; McCabe, 2006). Por el contrario, si estas interacciones líquido/sólido son menores que las sólido/sólido y líquido/líquido, éste tenderá a disminuir la superficie de contacto, el líquido no moja al sólido y tiene un ángulo de contacto mayor de  $90^\circ$  (O'Brien, 1997; McCabe, 2006).

El ángulo de contacto que forma un líquido sobre una superficie sólida va a depender en gran medida de la naturaleza de las dos sustancias en contacto (O'Brien, 1997). Para un mismo líquido (por ejemplo agua), un cuerpo con baja energía superficial (la cera) conformará ángulos de contacto muy elevados. Sin embargo, un cuerpo con alta energía superficial (el metal) facilitará ángulos de contacto pequeños. De igual forma, sobre una misma superficie, se pueden dar diferentes ángulos de contacto dependiendo de la tensión superficial del líquido.

Un sistema en general y un líquido en particular, tiende a disminuir espontáneamente su superficie. Es por esto que para aumentar la superficie de un sistema hay que efectuar un trabajo sobre el mismo. Para que una gota de un líquido moje bien un sólido, debe efectuarse un trabajo sobre el líquido. Éste trabajo se realiza merced a la energía superficial libre del sólido, por lo que al tener la dentina una baja energía superficial - debido a la hidrofobicidad de las fibras de colágeno - (Wege y cols., 2003), para que un líquido moje bien su superficie, debe tener aún más baja tensión superficial (McCabe, 2006).

### **I.3.3. Penetración capilar.**

Al situar un líquido en el interior de una estructura tubular, se produce una penetración del líquido en su interior. Éste movimiento es debido a la presión capilar y está completamente influenciado por la humectabilidad y el ángulo de contacto del líquido sobre las paredes del sólido. Es decir, la energía superficial del líquido crea una presión que arrastra al líquido o sustancia a espacios estrechos o tubos delgados (O'Brien, 1997; Díaz Peña, 1989), como ocurre en la superficie dentinaria.

Así, de lo visto, se deduce que un líquido con baja viscosidad, alta tensión superficial y bajo ángulo de contacto, penetrará más rápidamente que otro con propiedades opuestas.

### **I.3.4. Viscosidad.**

Condiciona la fluidez del material. Una viscosidad baja permite una mejor fluidez y adaptación del material a la superficie dental (Toledano y cols., 2003a; Macchi, 2007).

### **I.3.5. Temperatura.**

Influye directamente en la viscosidad y, por lo tanto, en la posibilidad de penetrar en la dentina. A mayor temperatura, menor viscosidad (Macchi, 2007).

También influye en la tensión superficial (Díaz Peña, 1989). A mayor temperatura, menor tensión superficial y una mayor humectabilidad.



## II. Objetivos



## II. OBJETIVOS

Los objetivos del presente estudio fueron los siguientes:

1. Aplicar la técnica ADSA-CD (*Axisymmetric Drop Shape Analysis - Contact Diameter*) en la medida del ángulo de contacto en dentina.
2. Evaluar el efecto del tratamiento con ácido ortofosfórico al 36% en las características morfológicas de la dentina superficial y profunda, por medio de la determinación del ángulo de contacto y de la rugosidad.
3. Cuantificar la influencia del tratamiento con una solución de hipoclorito sódico, tras aplicación previa de ácido ortofosfórico, en las características superficiales de la dentina superficial y profunda, mediante la determinación del ángulo de contacto y de la rugosidad.
4. Conocer el efecto del grabado ácido y del tratamiento con NaOCl sobre los valores de ángulo de contacto medidos en superficies de dentina profunda y superficial cuando se aplica un sistema adhesivo basado en acetona.
5. Valorar la resistencia al cizallamiento (*SBS*) de un sistema adhesivo basado en acetona, siguiendo las instrucciones de aplicación del fabricante, cuando es aplicado en dentina superficial y en dentina profunda.
6. Analizar el efecto del tratamiento previo de la dentina superficial y de la dentina profunda con una solución de hipoclorito sódico, tras el acondicionamiento ácido, en la resistencia adhesiva de un sistema adhesivo basado en acetona.
7. Realizar el análisis fractográfico de los fallos obtenidos tras los distintos tratamientos de superficie y en las diferentes profundidades de dentina de los especímenes unidos mediante un sistema adhesivo basado en acetona.

8. Estudiar los patrones de grabado ácido y de disolución de la fase orgánica tras el tratamiento con NaOCl en la interfase obtenida entre dentina superficial y profunda y el sistema adhesivo basado en acetona mediante microscopía electrónica de barrido.
  
9. Identificar la influencia de la localización de la dentina en la humectabilidad, la rugosidad y la resistencia al cizallamiento.

La hipótesis nula es que el ángulo de contacto, la rugosidad y la eficacia adhesiva en dentina superficial y profunda no están influidos por el grabado ácido ni por el tratamiento ulterior con el hipoclorito de sodio.

## III. MATERIAL Y MÉTODOS





## III. MATERIAL Y MÉTODOS

### III.1. Material

En este estudio se usaron 60 terceros molares humanos sanos extraídos que se almacenaron en una solución de cloramina al 0,5% hasta, como máximo, 1 mes después de su extracción.

De acuerdo con los objetivos de este trabajo se compararon los efectos de la aplicación de una solución de hipoclorito sódico, tras el acondicionamiento ácido, en la superficie dentinaria y de la influencia de la profundidad de la dentina, sobre las propiedades superficiales de la dentina (humectabilidad y rugosidad). También se determinó la resistencia adhesiva de la interfase generada con el adhesivo sometido a estudio aplicado según la recomendación del fabricante y conforme una modificación en dicho protocolo (tratamiento de superficie con hipoclorito sódico) y en diferentes profundidades de dentina.

Para esta investigación se usó el sistema adhesivo dentinario *Prime & Bond NT* (Dentsply/DeTrey, Konstanz, Germany). La descripción del sistema adhesivo utilizado se encuentra reflejada en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Descripción del sistema adhesivo *Prime & Bond NT*.

Adhesivo	Composición (según el fabricante)	Modo de empleo
Prime & Bond NT (pH = 2,7)	PENTA, TEGDMA, Bis-GMA, resina R5-62-1, resina T, resina D, nanorrelleno, iniciadores, estabilizadores, hidrofluorato de cetilamina, acetona	Grabar con H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 15 s. Lavar con spray de agua 15 s. Dejar una superficie húmeda con un suave chorro de aire. Saturar la superficie con el adhesivo, reaplicar si es necesario. Dejar la superficie sin modificar durante 20 s. Secar suavemente 5 s. Fotopolimerizar 10 s.

Abreviaturas: PENTA - dipentaeritol pentaacrilato monofosfato; TEGDMA: trietilenglicoldimetacrilato; Bis-GMA - bisfenol A diglicidil metacrilato; H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>: ácido ortofosfórico.

Para hacer la disolución de la fase orgánica de la superficie dentinaria se usó una solución acuosa de NaOCl al 5% (Panreac Química S.A., Barcelona, España).

Para la medida de la tensión superficial y el ángulo de contacto se usó la técnica *ADSA* (*Axisymmetric Drop Shape Analysis*). El sistema *ADSA* es un programa que implementa un método numérico para la evaluación de la tensión superficial y el ángulo de contacto a partir de la geometría de la gota. Fue desarrollado por Rotenberg y cols. (1983) y mejorado por Cheng y cols. (1990). El método *ADSA* ajusta las coordenadas de la gota obtenida por un tratamiento digital de imágenes a una ecuación teórica. La ecuación teórica utilizada es la ecuación de capilaridad de Young-Laplace:

$$\Delta P = \gamma \left( \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (3)$$

donde:

$\Delta P$  = diferencia de presiones en la interfase

$\gamma$  = tensión interfacial

$R_1 R_2$  = radios principales de curvatura

El método *ADSA* desarrolla dos técnicas relacionadas, que son la técnica *Axisymmetric Drop Shape Analysis Profile (ADSA-P)* (Cheng y cols., 1990; Cheng y Neumann, 1992) y la técnica *Axisymmetric Drop Shape Analysis Contact Diameter (ADSA-CD)* (Li y cols., 1992; Cheng y cols., 1990; Skinner y cols., 1989).

La técnica *ADSA-P* determina la tensión superficial de un líquido-fluido y el ángulo de contacto a partir de la geometría de un menisco axisimétrico formado por una gota pendiente o una gota sésil. A partir del perfil de la gota, *ADSA-P* busca el mejor ajuste entre las coordenadas obtenidas experimentalmente y las coordenadas teóricas de forma que se satisfaga la ecuación de capilaridad de Laplace. Para conseguir datos realistas es muy importante que el perfil de la gota a analizar posea una geometría totalmente simétrica.

*ADSA-P* solo necesita conocer, a parte de algunos puntos del perfil de la gota, la densidad del líquido y la aceleración local de gravedad.

La técnica *ADSA-CD* analiza la gota desde arriba, evaluando el diámetro de contacto y ajustando este diámetro a la ecuación de capilaridad de Laplace.

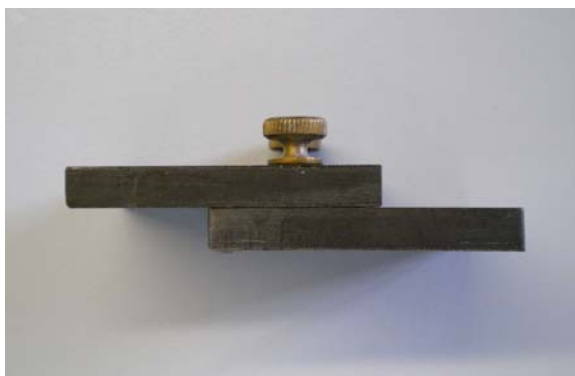
*ADSA-CD* requiere conocer, a parte de las coordenadas de los puntos de la línea de tres fases, la aceleración local de gravedad, el volumen de la gota de estudio y la tensión superficial del líquido que forma el ángulo. Por esta razón se hace necesaria la previa determinación de la tensión superficial del agua y del adhesivo mediante la técnica *ADSA-P*. La importancia de la aplicación de este método se basa en que, en este caso, no es necesaria una geometría simétrica de la gota a analizar para obtener resultados realistas. La dentina es una superficie heterogénea que provocará asimetría en la gota, siendo *ADSA-CD* el método más adecuado para su análisis.

En este estudio se han utilizado las dos técnicas. *ADSA-P* se ha aplicado en la determinación de la tensión superficial del agua y de la resina adhesiva. *ADSA-CD* se ha utilizado en la medida de la humectabilidad (ángulo de contacto) de la dentina con agua y con una resina adhesiva basada en acetona.

Para la medición del ángulo de contacto también se usó una micropipeta de *Eppendorf* (*Eppendorf Scientific Inc.*, Westbury, NY) y un sistema de microvideo (*Leica Wild M 32 Microscopy*, Wild, Heerbrugg, Switzerland).

Para hacer la perfilometría de superficie se usó un perfilómetro o rugosímetro (*Mitutoyo SurfTest 201*, Tokyo).

Para el ensayo de resistencia al cizallamiento se usaron las mordazas de *Watanabe* (fig. 3) y la Máquina Universal de Ensayos *Instron* (modelo 4411; *Instron Corporation*, Canton, MA, USA).



**Fig. 3.** Mordazas de Watanabe montadas

La resina compuesta usada fue el *Spectrum TPH* (*Dentsply/DeTrey*, Konstanz, Germany). Su composición se encuentra reflejada en la [Tabla 2](#).

**Tabla 2.** Composición química y modo de empleo de la resina compuesta utilizada.

Resina Compuesta	Matriz Orgánica	Matriz Inorgánica	Modo de aplicación
TPH ( <i>Dentsply/DeTrey</i> , Konstanz, Germany)	Bis-GMA, Bis-EMA y TEGDMA	Barioaluminoborosilicato, dioxido de silicio	En capas con un grosor máximo de 2 mm y polimerizar durante 40 s cada una.

Abreviaturas: Bis-GMA - bisfenol A diglicidil metacrilato; Bis-EMA - bisfenol A glicol dimetacrilato etoxilado; TEGDMA - trietileno glicol dimetacrilato

## III.2. Caracterización de la superficie.

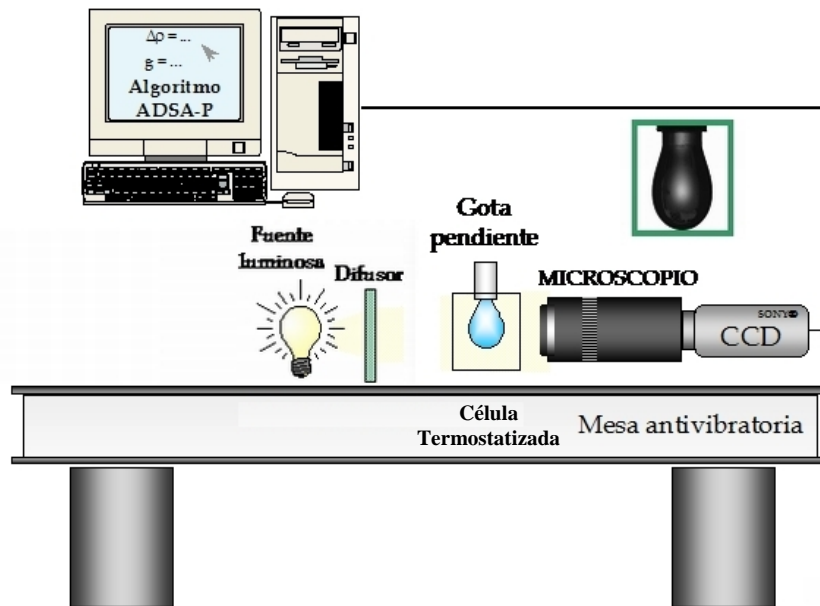
### III.2.1. Medida del ángulo de contacto.

Como se ha indicado anteriormente, se empleó el sistema *ADSA* para evaluar la influencia del tipo de tratamiento superficial en el ángulo de contacto del agua y del sistema adhesivo sobre la dentina superficial y profunda.

#### III.2.1.1. Determinación de la tensión superficial.

Para la determinación de la tensión superficial utilizamos la técnica *ADSA-P* (fig. 4), que, como ya se ha referido, determina la tensión superficial de un líquido-fluido a partir de la geometría de un menisco axisimétrico formado por una gota pendiente o una burbuja cautiva. Así, se debe hacer la determinación de la tensión superficial del agua y del sistema adhesivo para poder determinar el ángulo de contacto usando la técnica *ADSA-CD*.

Para la obtención de las medidas interfaciales con la técnica *ADSA-P* hay que seguir varias fases. Primero posicionar el microscopio horizontalmente y calcular el ángulo de rotación de la cámara. A continuación hacer la calibración y después introducir la imagen que contiene la rejilla y extraer los puntos de intersección para conocer la transformación geométrica a aplicar en cada zona de la imagen. Posteriormente visualizar la imagen de la gota a analizar y extraer automáticamente el perfil de la gota mediante un software especializado. Corregir las coordenadas del perfil con el ángulo de rotación de la cámara obtenido anteriormente. Aplicar la transformación geométrica para cada punto del perfil de la gota y obtener las coordenadas físicas definitivas en cm. Hacer la determinación de la tensión superficial mediante la técnica *ADSA*; con las coordenadas físicas de la gota se calcula la tensión superficial.



**Fig. 4.** Representación del dispositivo utilizado para medidas de tensión superficial y ángulo de contacto con *ADSA-P*.

### III.2.1.2. Preparación de las muestras.

En este estudio se usaron veinte terceros molares humanos sanos extraídos, se almacenaron en una solución de cloramina al 0,5% hasta 1 mes después de su extracción. Los dientes extraídos se limpiaron y se montaron en bloques de resina acrílica autopolimerizable, dejando los dos tercios oclusales de la corona expuestos. Los especímenes fueron seccionados por debajo de la unión amelodentinaria (fig. 5) y pulidos con papel abrasivo de SiC de 600-grit irrigados con agua (fig. 6), para obtener superficies uniformes de dentina. Los especímenes se dividieron de forma aleatoria en 2 grupos iguales (n=10).



**Fig. 5.** Preparación para dentina superficial (A) y profunda (B).



**Fig. 6.** Pulido de una muestra con papel abrasivo de SiC de 600-grit irrigado con agua.

Grupo 1: después del pulido, 10 gotas consecutivas de 0,3  $\mu$ l de agua desionizada fueron colocadas en la superficie dentinaria con una micropipeta de *Eppendorf* (*Eppendorf Scientific Inc.*, Westbury, NY) y se midió el ángulo de contacto observado.

Grupo 2: tras el pulido y la evaluación anterior de ángulo de contacto, la superficie fue grabada con ácido fosfórico al 35% durante 15 segundos y lavada con agua por 10 segundos. Diez gotas consecutivas de 0,3  $\mu$ l de agua desionizada fueron colocadas en la superficie dentinaria grabada con una micropipeta *Eppendorf* y se midió el ángulo de contacto. Después de medir el ángulo de contacto, se colocó una gota de *Prime & Bond NT (P&B NT)* y se midió el ángulo de contacto observado.

Grupo 3: Diez gotas consecutivas de 0,3  $\mu$ l de agua desionizada fueron colocadas en la superficie dentinaria (cubierta de barrillo dentinario) con una micropipeta *Eppendorf* y se midió el ángulo de contacto. Después, la superficie fue grabada y lavada. Se colocaron diez gotas más de agua en la superficie dentinaria grabada. Después de medir el ángulo de contacto, la superficie dentinaria fue tratada con una solución de NaOCl al 5% (*Panreac Química S.A.*, Barcelona, España) durante 2 minutos con agitación constante y fue lavada con agua destilada durante 10 segundos. Otras diez gotas de agua fueron colocadas en esta superficie dentinaria grabada y tratada con hipoclorito y se midió el ángulo de contacto observado. Una gota de *Prime & Bond NT* fue depositada en la dentina tratada con hipoclorito y se midió el ángulo de contacto.

Tras hacer los tests en la dentina superficial, los molares fueron cortados 800  $\mu$ m  $\pm$ 100  $\mu$ m por debajo del nivel original para obtener dentina profunda (la



distancia entre cada corte fue de aproximadamente  $1,1\text{mm} \pm 0,1\text{mm}$ ). Esta dentina profunda expuesta fue pulida usando el mismo método usado en la dentina superficial. Como se ha descrito previamente, el ángulo de contacto observado se midió en la dentina profunda para los 3 grupos, con agua (10 gotas para cada muestra) y con el sistema adhesivo *Prime & Bond NT*.

El estado de hidratación de la dentina fue cuidadosamente controlado. El exceso de agua solo fue removido justo antes de hacer las mediciones del ángulo de contacto, para evitar la deshidratación de la dentina, dejando una superficie húmeda y ligeramente brillante, pero no quedó agua en exceso en la superficie de la dentina. Todas las mediciones de los ángulos de contacto se hicieron en una célula termo-estática a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  y cerca de la saturación de humedad.

### III.2.1.3. Medición de ángulo de contacto.

Se usó la técnica *ADSA-CD* (Axisymmetric Drop Shape Analysis - Contact Diameter) (Li y cols., 1992; Cheng y cols., 1990; Skinner, Rotenberg y Neumann, 1989) para hacer las medidas del ángulo de contacto (fig. 7). El programa *ADSA-CD* requiere el diámetro de contacto de la gota sésil, la densidad y la tensión interfacial del fluido para obtener el ángulo de contacto. El diámetro de contacto de la gota es determinado desde una imagen de una vista superior de la gota sésil. Este programa permite medir el ángulo de contacto de gotas sésiles incluso de aquellas que no tengan un perfil simétrico. El volumen de cada gota fue de  $0,3\text{ }\mu\text{l}$  calibrado con una micropipeta de *Eppendorf* (Eppendorf Scientific Inc., Westbury, NY). Las imágenes fueron capturadas inmediatamente después de la deposición con un sistema de microvideo (Leica Wild M 32 Microscopy, Wild, Heerbrugg, Switzerland) usando una magnificación de 10x. La señal de video fue transmitida para el "Data Translation Frame Grabber Board" (Data Translation, Malboro, MA) con 256 niveles de gris y una resolución de  $800 \times 600$  píxeles. Se usó un ordenador Intel® Core™ 2 (Intel, London, UK) para adquirir la imagen del "Frame Grabber" y para hacer los cálculos. El *software* del ordenador (Cheng y cols., 1990; Li y cols., 1992) proporcionó los valores del ángulo de contacto. El montaje de los aparatos se hizo en una mesa neumática anti-vibratoria.

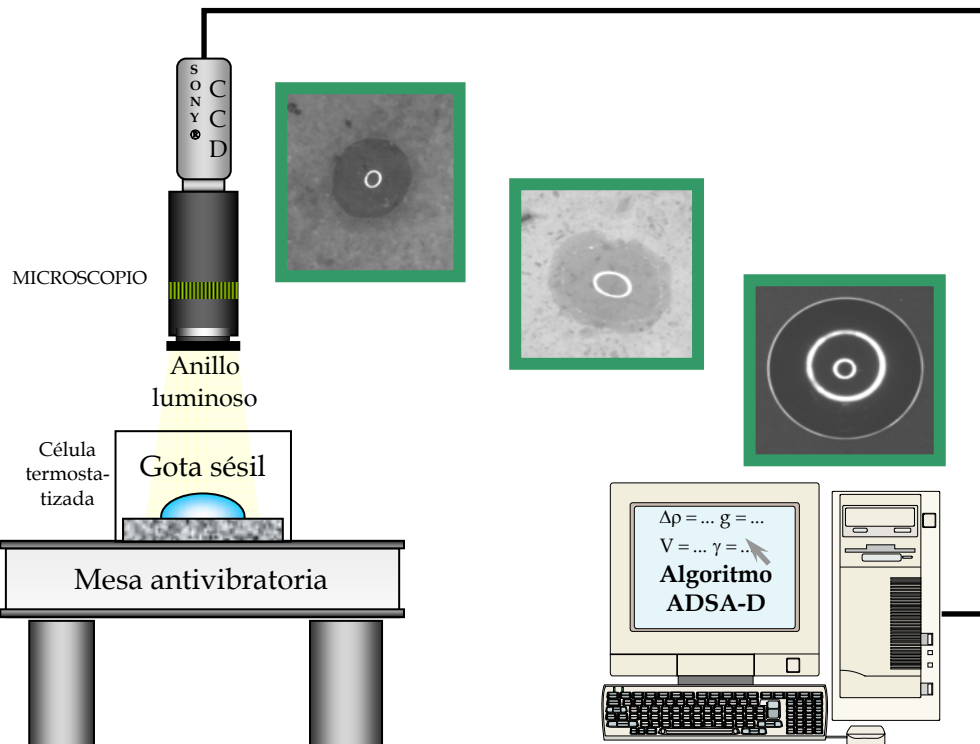


Fig. 7. Representación esquemática de la técnica ADSA-CD.

### III.2.2. Perfilometría de superficie (rugosidad).

La perfilometría de superficie tuvo como objetivo cuantificar la rugosidad de las superficies mediante perfiles lineales. Para ello se utilizó el perfilometro o rugosímetro (Mitutoyo SurfTest 201, Tokyo) que consiste en un brazo móvil con una punta palpadora que recorre linealmente la superficie (figs. 8 y 9). La punta es un diamante con diámetro de  $5\ \mu\text{m}$ , su presión es de  $4\text{mN}$  y la velocidad de medición es  $0,5\ \text{mm/s}$ . La extensión de la medida es de  $4\text{mm}$  con una resolución de  $10\ \mu\text{m}$ . El aparato utilizado en este estudio permite medir variaciones de rugosidad  $R_a$  de  $0,05\ \mu\text{m}$ .

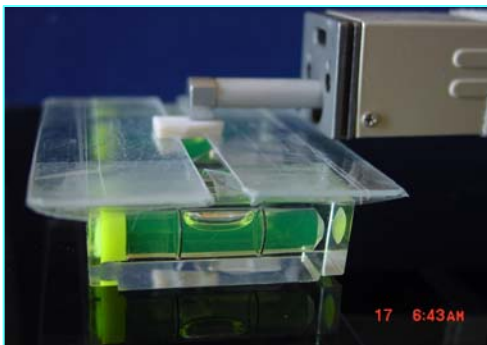


Fig. 8. Perfilometro de punta de diamante (Mitutoyo)



Fig. 9. Punta palpadora de diamante

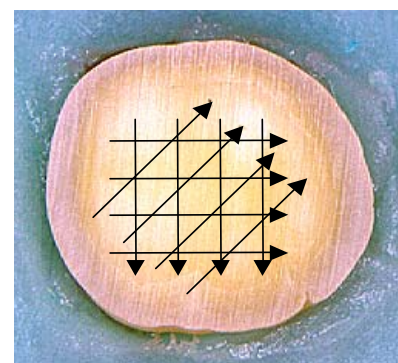
En este estudio se usaron doce terceros molares humanos sanos extraídos, se almacenaron en una solución de cloramina al 0,5% hasta 1 mes después de su extracción. Los dientes extraídos se limpiaron y se montaron en bloques de resina acrílica autopolimerizable, dejando los dos tercios oclusales de la corona expuestos. Los especímenes se dividieron de forma aleatoria en dos grupos iguales; en el grupo A ( $n = 6$ ) los dientes se seccionaron por debajo de la unión amelodentinaria (fig. 5A) y pulidos con papel abrasivo de SiC de 600-grit irrigados con agua (fig. 6), durante 60 segundos, para obtener superficies uniformes de dentina superficial. Las superficies se observaron en un estereomicroscopio (Olympus Optical Co., GmbH, Hamburg, Germany) (fig. 10) para asegurar que no quedara ningún esmalte residual. En el grupo B ( $n = 6$ ) los dientes se cortaron  $1,1 \pm 0,1$  mm por debajo de los niveles originales (fig. 5B), y se aplanaron para exponer dentina profunda.



**Fig. 10.** Estereomicroscopio

Después de la exposición de la dentina superficial y profunda, su pulido, grabado y tratamiento con hipoclorito como se ha descrito previamente, se midió la rugosidad de superficie de los especímenes, tras recibir cada uno de los tratamientos de superficie descritos, con el perfilómetro.

Para cada muestra se hicieron 12 recorridos de 8 mm en cada superficie en tres orientaciones diferentes, que se consiguieron girando el espécimen  $45^\circ$  cada cuatro perfilometrias y se calculó el  $R_a$  (desviación media aritmética del perfil de rugosidad) en  $\mu\text{m}$ , con un valor de paso de 0,8 mm (fig. 11).



**Fig. 11.** Dirección de los recorridos durante las medidas de rugosidad

Las medidas se realizaron también en una mesa antivibratoria para evitar las posibles interferencias ocasionadas por las vibraciones del edificio.

Cada vez que el perfilometro fue utilizado se calibró previamente midiendo la rugosidad de una superficie con un patrón de rugosidad  $R_a$  conocido de  $3 \mu\text{m}$  y ajustando el aparato hasta igualar esa medida.

El análisis de la rugosidad realizado por el aparato contempla la superficie desde un punto de vista transversal, donde se muestra el perfil de rugosidad que representa la intersección de la superficie con un plano normal a ésta y en la que se puede medir la altura y la profundidad de los picos y valles que forman las irregularidades.

La rugosidad se expresa mediante la desviación de la media aritmética del perfil de rugosidad por el parámetro  $R_a$ . Este parámetro expresa la media aritmética de la altura de los picos y la profundidad de los valles de las irregularidades de una línea de longitud conocida.

### **III.3. Caracterización de la interfase.**

#### **III.3.1. Evaluación de la resistencia adhesiva.**

En este trabajo fue utilizado un sistema desarrollado en la Universidad de California, San Francisco: el *Single-Plane Shear Test Assembly (SPSTA)* (Test de Resistencia al Cizallamiento mediante Ensamblaje por un Plano Único). Este sistema minimiza la creación de tensiones complejas, aplicando la tensión sobre la zona de adhesión en un solo plano (Watanabe y cols., 2000).

Este método consiste en un sistema simple de dos placas o mordazas de un material polimérico (homopolímero de acetato, Delrin™, California USA), una para fijar el substrato y la otra para el material restaurador. Las dos mordazas entran en

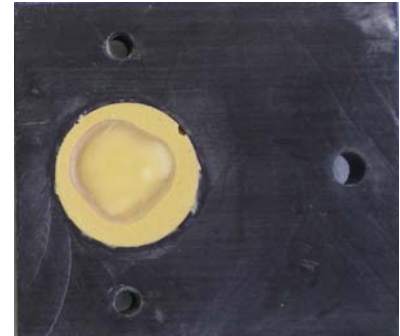
contacto únicamente por el área de adhesión durante la carga. Ellas son fijadas a cadenas flexibles, que proporcionan un perfecto alineamiento entre la interfase de unión y la dirección de la carga, acopladas a una máquina universal de ensayos y sometidas a fuerzas de tracción (Watanabe y cols., 2000).

La mordaza 1 es la que incorpora el espécimen o sustrato de unión (fig. 13). Esta mordaza tiene en su centro una perforación, que desde un punto de vista transversal, presenta una porción cilíndrica en una cara y otra porción troncocónica en la otra cara.

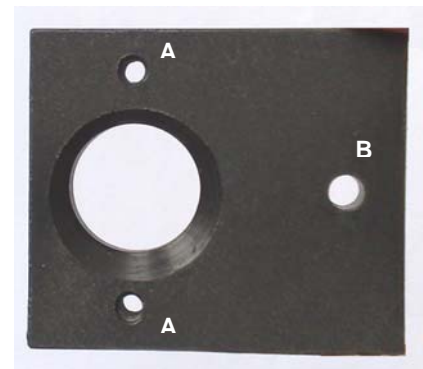
La porción cilíndrica tiene una altura de 2 mm perpendicular al eje de tracción. Está situada en la cara de la mordaza donde se realiza la adhesión. Tiene como finalidad evitar movimientos del espécimen durante la carga.

La mordaza 1 tiene dos orificios roscados (fig. 13 A) a ambos lados del orificio central en el eje menor de la mordaza para atornillar a la otra mordaza. También tiene otro orificio en un extremo del eje mayor de la mordaza (fig. 13 B) para unirla a los elementos de anclaje universales.

Para el montaje del espécimen en la mordaza 1 es necesaria una cinta adhesiva de poliéster de alta resistencia a los solventes. Esta cinta adhesiva lleva una perforación de un diámetro de 3,6 mm. El espécimen se adhiere a esta cinta adhesiva, quedando expuesta la zona de adhesión. La cinta adhesiva se bruñe contra la superficie del espécimen para asegurar una correcta unión.



**Fig. 12.** Mordaza 1 con un espécimen colocado.



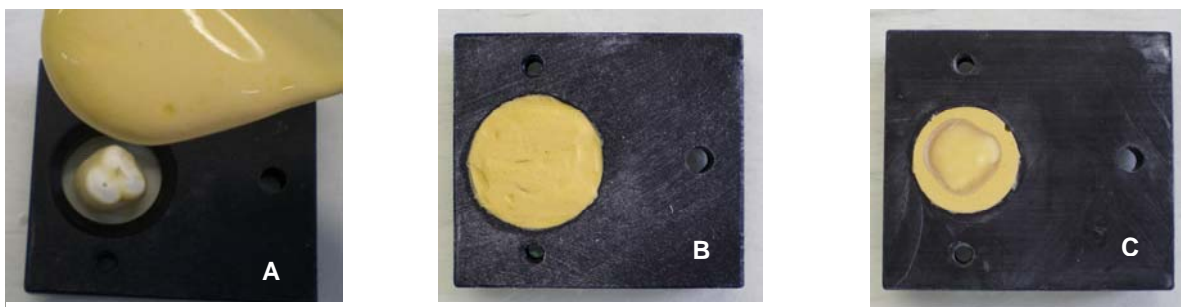
**Fig. 13.** Mordaza 1. A: orificios roscados; B: orificio para el elemento de anclaje a la máquina de ensayos.



**Fig. 14.** Mordaza 1 invertida.

El espécimen con la cinta adhesiva es montado en la perforación mayor de la mordaza 1, con el área a adherir expuesta tan cerca del centro como sea posible y unida a la mordaza. La mordaza 1 es entonces invertida, con la zona de adhesión hacia abajo y la parte ancha de la perforación central hacia arriba (fig. 14).

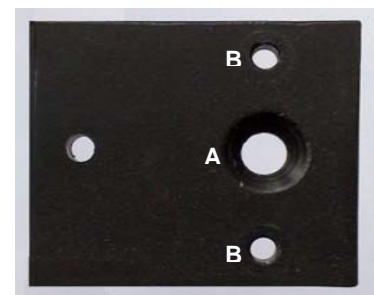
Para asegurar el espécimen rígidamente a la mordaza, la perforación mayor se rellena de yeso piedra tipo I (fig. 15 A y 15 B) y se espera su fraguado durante 60 minutos. Tras el fraguado del yeso piedra, el espécimen es una parte rígida de la mordaza 1 (fig. 15 C).



**Fig. 15.** Mordaza 1. A y B: Vaciado de yeso piedra. C: El espécimen formando parte de la mordaza.

La mordaza 2 es de dimensiones similares a la mordaza 1 pero el orificio mayor es reducido en su tamaño (6,35 mm) (fig. 16 A).

En esta perforación (fig. 16 A) se coloca el material de restauración. También tiene una porción cilíndrica de 2 mm de altura paralela al eje de tracción que tiene una triple misión. En primer lugar, no inhibirá cualquier carga mecánica que pueda ocurrir mediante la polimerización del material. En segundo lugar, su altura indica el tamaño de la capa de material de restauración. Y en tercer lugar, sujetará el material en su totalidad evitando contactos lineales o puntuales. Al polimerizar, el material de restauración se convierte en un componente rígido de la mordaza.

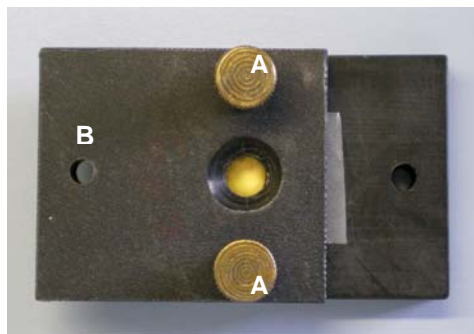


**Fig. 16.** Mordaza 2.  
A: orificio para el material restaurador.  
B: orificio roscado.

La mordaza 2 tiene dos orificios roscados a ambos lados de la perforación en el eje menor de la mordaza (fig. 16 B). Estos dos orificios sirven para unir las dos mordazas entre sí mediante tornillos de acero inoxidable e impedir cualquier

movimiento durante los procedimientos de adhesión, manipulación y almacenamiento antes del ensayo de tracción.

Al atornillar las mordazas entre sí, la perforación queda alineada directamente sobre la cinta adhesiva con su perforación y la superficie de adhesión expuesta (fig. 17). Estos dos tornillos (fig. 17 A) son eliminados justo antes de la aplicación de la carga en la máquina de tracción.



**Fig. 17.** Superficie dentinaria alineada con el agujero de 6,35mm de la otra mordaza de Watanabe.

La mordaza 2 también tiene un orificio más en un extremo del eje mayor para unirla a los elementos de ensamblaje universales de la máquina de ensayos (fig. 17 B).

### III.3.1.1. Obtención de las superficies de estudio.

En este estudio se usaron veinte molares humanos sanos extraídos, se almacenaron en una solución de cloramina al 0,5% hasta 1 mes después de su extracción. Los dientes extraídos se limpiaron y se montaron en bloques de resina acrílica autopolimerizable, dejando los dos tercios oclusales de la corona expuestos. Los especímenes se dividieron de forma aleatoria en dos grupos iguales; en el grupo A ( $n = 10$ ) los dientes se seccionaron por debajo de la unión amelodentinaria (fig. 5) y pulidos con papel abrasivo de SiC de 600-grit irrigados con agua (fig. 6), durante 60 segundos, para obtener superficies uniformes de dentina superficial. Las superficies se observaron en un estereomicroscopio (Olympus Optical Co., GmbH, Hamburg, Germany) (fig. 10) para asegurar que no quedara ningún esmalte residual. En el grupo B ( $n = 10$ ) los dientes se cortaron

1,1± 0,1mm por debajo de los niveles originales (fig. 5B), y se pulieron para exponer dentina profunda. Los especímenes se montaron en las mordazas de Watanabe (fig. 3) (Watanabe y cols., 1988; Watanabe y cols., 1996) con las raíces y las cámaras pulpares de todos los dientes intactas. Cada diente se incluyó en escayola en una mitad de la mordaza de Watanabe (fig. 18 A-D). Todos los especímenes permanecieron hidratados durante todos los procedimientos, manteniendo agua en exceso en las superficies dentinarias preparadas.

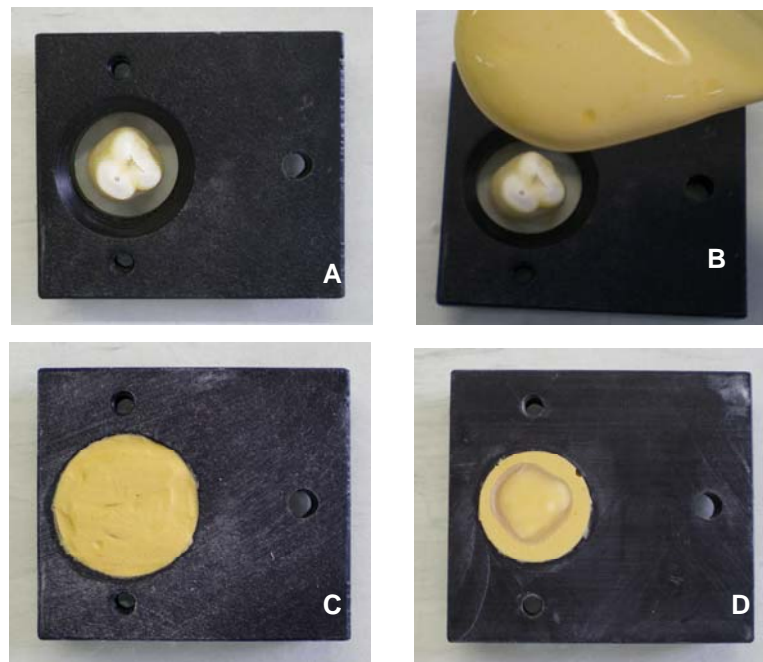


Fig. 18 (A-D). Inclusión del espécimen en escayola en una mitad de la mordaza de Watanabe

### III.3.1.2. Aplicación del sistema adhesivo.

Después de terminada la preparación de las superficies, se grabaron con ácido ortofosfórico ( $H_3PO_4$ ) al 36% (DeTrey Conditioner 36, Dentsply/DeTrey, Konstanz, Germany) durante 15 segundos y se lavaron 10 segundos con agua. La superficie dentinaria se secó suavemente con aire. Se usó la técnica de adhesión húmeda (*wet-bonding technique*), usando papel secante húmedo para eliminar el exceso de agua. De Goes y cols (1997) afirman que, clínicamente, una dentina suficientemente húmeda es evidenciada por una superficie uniformemente brillante en la cual no hay agua acumulada. Posteriormente, el sistema adhesivo *Prime&Bond NT* se aplicó en cada uno de los 5 especímenes de dentina superficial ( $n = 5$ ) y en cada uno de los 5 de dentina profunda ( $n = 5$ ). El adhesivo *Prime&Bond*



NT se aplicó de forma abundante, dejándolo en reposo durante 20 segundos; se secó suavemente con aire durante 5 segundos para evaporar la acetona; y se polimerizó 20 segundos con una lámpara *Optilux 500* (Demetron Research Corporation, Danbury, CT, USA). Posteriormente se aplicó una segunda capa de adhesivo que fue de inmediato adelgazada con aire.

A continuación, se unieron las mordazas 1 y 2 con los tornillos de fijación y se colocó la resina compuesta *Spectrum TPH* en la perforación de la mordaza 2. La resina compuesta *Spectrum TPH* se colocó en incrementos de 1-1,5mm y se polimerizó con la lámpara *Optilux 500* (fig. 19) durante 40 segundos. La potencia de la lámpara se controló con un radiómetro (Demetron Research Corporation, Danbury, CT, USA) para asegurar un valor constante de 500 mW/cm<sup>2</sup>. El grosor total de material restaurador fue aproximadamente 3 mm.

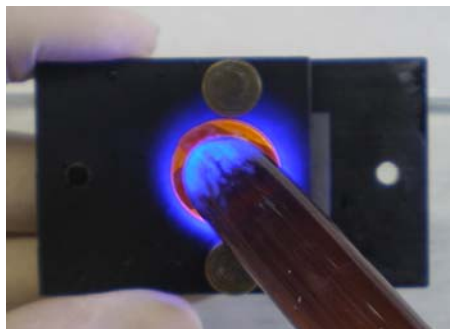


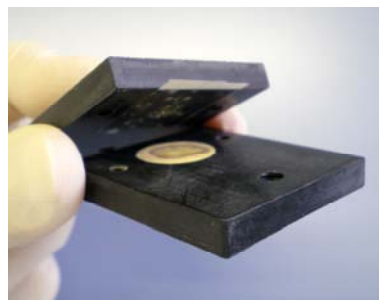
Fig. 19. Polimerización con la lámpara *Optilux 500*

En los otros 10 especímenes (dentina superficial: n = 5; dentina profunda: n = 5), después de la aplicación del ácido y su lavado, la superficie dentinaria de cada uno se trató con una solución acuosa de NaOCl al 5% (Panreac Química S.A., Barcelona, España) durante 2 minutos con agitación constante y se lavó durante 2 minutos con agua destilada. El adhesivo se aplicó, entonces, como ya se ha descrito.

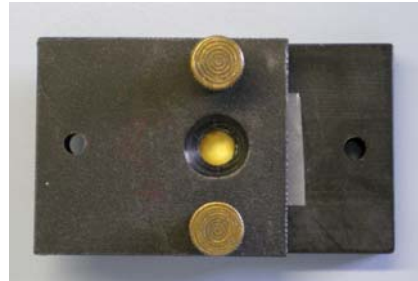
La otra mordaza de Watanabe se fijó, con una matriz de acetato en el agujero de 4mm (fig. 20) contactando con el adhesivo (fig. 21). La superficie de dentina expuesta fue alineada con el agujero de 6,35mm de la otra placa de Watanabe (fig. 22). La resina compuesta *Spectrum TPH* se aplicó como se ha descrito anteriormente.



**Fig. 20.** Matriz de acetato en el agujero de 4mm



**Fig. 21.** Matriz de acetato en el agujero de 4mm contactando con el adhesivo



**Fig. 22:** Superficie dentinaria alineada con el agujero de 6,35mm de la otra placa de Watanabe

Tras el montaje, las mordazas se almacenaron en agua destilada a 37 °C durante 24h.

### **III.3.1.3. Ensayo de cizallamiento.**

Se utilizaron 20 molares divididos en cuatro grupos de 5 cada uno. Se incluyeron y prepararon como ya descrito. Dos de los grupos eran de dentina superficial y los otros dos de dentina profunda.

Cumplido el periodo de almacenamiento, los especímenes se termociclaron (fig. 23) (1000x) utilizando dos baños de agua a 6 °C y 60 °C. El tiempo de inmersión en cada baño fue de 30 segundos, (Toledano y cols., 1999b).



**Fig. 23.** Termocicladora

Después del termociclado, se hizo el test de *Shear Bond Strength* (SBS) usando la Máquina Universal de Ensayos Instron (modelo 4411; Instron Corporation, Canton, MA, USA) (fig. 24) a una velocidad de cruceta de 0.75 mm/min.



**Fig. 24.** Preparación del test de *Shear Bond Strength* usando la Máquina Universal de Ensayos Instron (modelo 4411)

Una vez concluido el ensayo de cizallamiento las porciones fracturadas se retiraron cuidadosamente de las mordazas de Watanabe y se midió el área de la

sección transversal correspondiente a la fractura de cada espécimen con un micrómetro de precisión de  $\pm 0,01$  mm (Mitutoyo, Tokyo). El valor de la carga máxima en el momento de la fractura obtenido en Newtons fue dividido por el área. Los valores finales de resistencia adhesiva fueron expresados en megapascales (MPa).

### **III. 3.1.4. Análisis fractográfico**

Todos los especímenes, una vez fracturados, se analizaron en un estereomicroscopio (Olympus SZ-CTV, Olympus, Tokio, Japón) a 40x aumentos para determinar el tipo de fallo. Los tipos de fallo fueron clasificados en adhesivos, cohesivos (en la dentina o en el composite) y mixtos.

### **III.3.2. Análisis de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB).**

Se recurrió a esta técnica microscópica para el análisis de la infiltración del adhesivo en las diferentes profundidades de dentina tratada con hipoclorito sódico o no.

Se utilizaron 2 molares para cada grupo de estudio. La preparación de las muestras consistió en la obtención de superficies planas de dentina superficial y profunda. Se usó el mismo protocolo y los mismos grupos descritos anteriormente para la evaluación de la resistencia adhesiva.

Los especímenes, una vez procesados, se cortaron con un microtomo de baja velocidad (Accutom Hard Tissue Microtome; Struers, Denmark) paralelos a su eje mayor. Después se cementaron en un portamuestras de aluminio para microscopio electrónico de barrido con un pegamento de carbón. A continuación se cubrieron con oro utilizando una unidad de cobertura Polaron E-5000 (Polaron Equipment Ltd. Watford, England). Los especímenes preparados fueron observados en un microscopio electrónico de barrido (MEB) (1430 VP, LEO Electrón Microscopy Ltd., Cambridge, UK) a una voltaje de aceleración de 20kV, para examinar la morfología de las superficies.

### III.4. Análisis estadístico.

#### III.4.1. Estadística descriptiva.

Todas las variables cuantitativas sometidas a estudio fueron descritas adoptando como medida de tendencia central la media aritmética y como medida de dispersión la desviación estándar.

#### III.4.2. Estadística analítica.

Las variables dependientes cuantitativas estudiadas fueron el ángulo de contacto, la rugosidad y la resistencia adhesiva al cizallamiento.

Se realizaron tests de ANOVA *two way* para establecer la relación de las variables dependientes: ángulo de contacto (humectabilidad), rugosidad y resistencia al cizallamiento, con las variables independientes: profundidad de la dentina (superficial, profunda) y tratamiento de superficie (pulido, grabado, hipoclorito de sodio).

Se incluyeron en el ANOVA análisis de las interacciones.

Las comparaciones múltiples posteriores se llevaron a cabo mediante el test de *Student-Newman-Keuls* o el test de la *t* de Student.

El nivel de significación estadística aceptado fue de un 95% de confianza.

El análisis de los datos fue realizado con el paquete estadístico *SPSS/PC+* v-4.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU).

## IV. RESULTADOS



## IV. RESULTADOS

Los resultados obtenidos se dividen en dos partes. Por un lado, los correspondientes a la caracterización de la superficie de la dentina a través de la determinación del ángulo de contacto y de la rugosidad, y por otro lado, los relativos a la caracterización de la interfase mediante la resistencia adhesiva generada entre la dentina y el sistema adhesivo estudiado, así como la visualización en Microscopia Electrónica de Barrido de dicha interfase.

### IV.1. Caracterización de la superficie

#### IV.1.1. Humectabilidad (Ángulo de contacto (°)).

Para utilizar el sistema *ADSA-CD* en la determinación del ángulo de contacto fue necesario usar previamente el sistema *ADSA-P* para hacer la determinación de la tensión superficial del agua desionizada utilizada, que es 72,66 mN/m, y del sistema adhesivo *Prime & Bond NT (P&B NT)* que es 23,94 mN/m.

Las variables dependientes estudiadas fueron los ángulos de contacto formados entre la superficie de la dentina y las gotas de agua, y los de la interfase dentina y gota de *P&B NT*, medidas mediante el sistema *ADSA-CD*. Las variables



independientes fueron la profundidad de la dentina (superficial y profunda) y el tratamiento de superficie recibido: (a) pulido con discos de SiC de 600 grit, (b) grabado con ácido ortofosfórico y (c) grabado con ácido ortofosfórico y tratado con hipoclorito sódico.

La fig. 25 muestra algunas de las imágenes de gotas de agua obtenidas con la técnica *ADSA-CD*, donde se pueden observar los diferentes grados de extensión en las distintas profundidades y según los tipos de tratamiento de superficie.

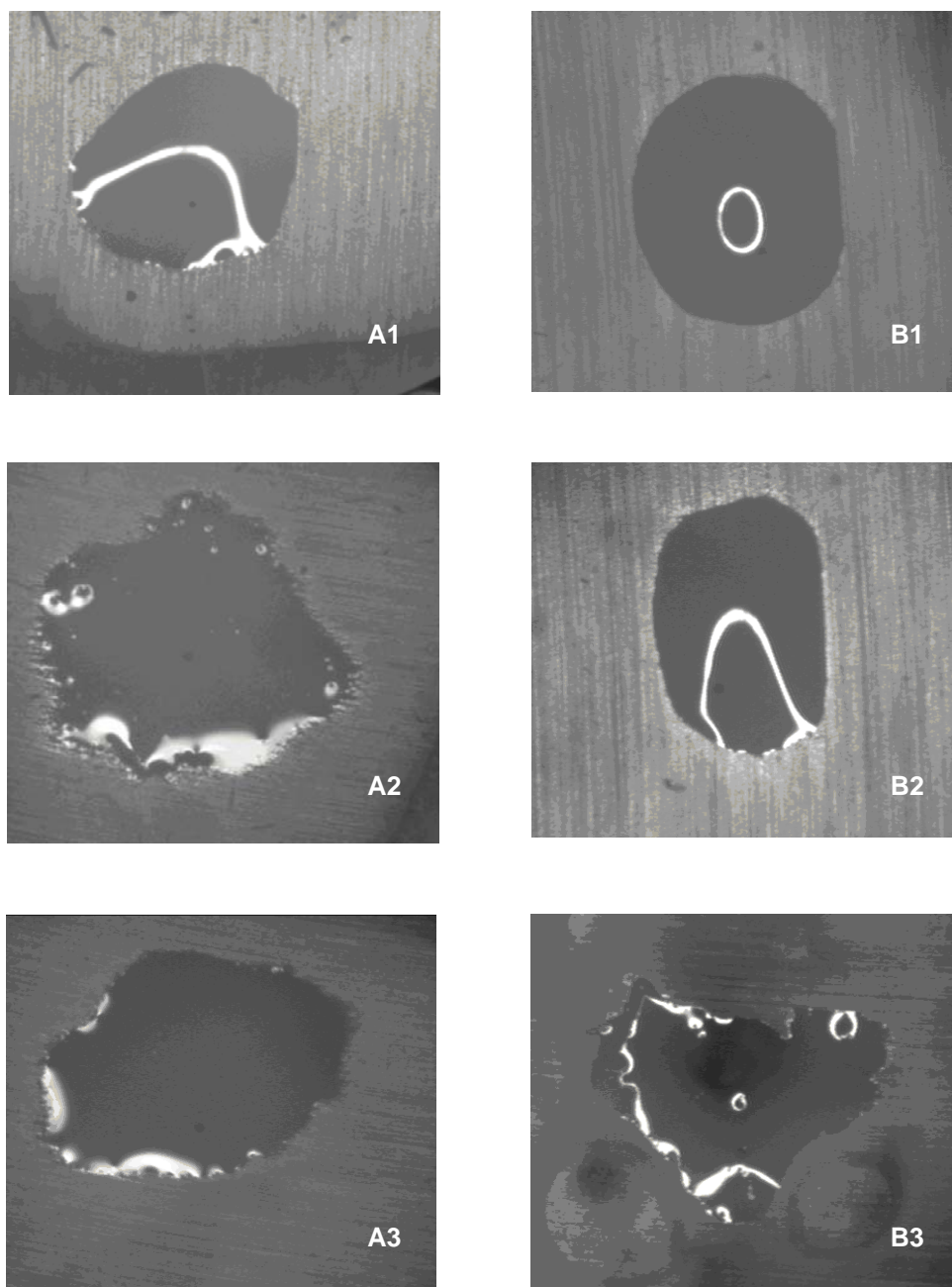


Fig. 25. Imágenes de *ADSA-CD* en dentina superficial (A) y profunda (B), después del pulido (1), tras el grabado ácido (2) y tratadas con NaOCl (3).

La tabla 3 muestra la media y la desviación estándar para los valores del ángulo de contacto ( $^{\circ}$ ) obtenidas tanto en dentina superficial como en dentina profunda. El test ANOVA *two-way* indicó que el tratamiento de superficie de la dentina pulida y tratada con ácido ortofosfórico ( $P < 0,001$ ) tuvo un efecto estadísticamente significativo en el ángulo de contacto observado con agua. Existe una interacción significativa entre el tratamiento de superficie y la profundidad de la dentina tratada con NaOCl ( $P < 0,05$ ). El ángulo de contacto observado para el agua disminuyó en la dentina grabada con ácido cuando fue comparado con la dentina pulida (cubierta de barrillo dentinario), independientemente de la profundidad de la dentina. El ángulo de contacto medio obtenido con el agua en la dentina grabada vs dentina grabada y tratada con hipoclorito fue estadísticamente similar para la dentina superficial, pero menor en dentina profunda tras la aplicación del hipoclorito sódico.

**Tabla 3.** Valores medios de ángulo de contacto ( $^{\circ}$ ) de las interfases agua-dentina y P&B NT-dentina con diferentes tratamientos de superficie.

Tabla 3	Ángulo de contacto ( $^{\circ}$ )			
	Agua		P&B NT	
Dentina	Superficial	Profunda	Superficial	Profunda
Pulida	16 (6,7) <sub>a</sub>	18,25 (4,2) <sub>a</sub>	-	-
Grabada	5,24 (2,7) <sub>b</sub>	5,6 (2,5) <sub>b</sub>	8,75 (4,1) <sub>A</sub>	9,36 (3,4) <sub>A</sub>
Tratada con NaOCl	6,0 (3,7) <sub>b</sub>	3,6 (1,1) <sub>c</sub>	8,91 (7,8) <sub>A</sub>	9,95 (4,7) <sub>B</sub>

Para cada columna valores con letra distinta son estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ )

Cuando el ángulo de contacto se midió con agua, las comparaciones del test *t* de Student entre dentina superficial y profunda no mostraron diferencias significativas para la dentina pulida ( $P = 0,150$ ) ni para la dentina grabada. Para la dentina grabada y tratada con hipoclorito sí existieron diferencias significativas entre dentina superficial y profunda ( $P < 0,001$ ).

En lo que respecta a los resultados obtenidos en el ángulo de contacto del *P&B NT*, las dentinas superficial y profunda grabadas obtuvieron un resultado estadísticamente similar cuando son comparadas con la dentina superficial tratada con hipoclorito (Tabla 3) ( $P=0,31$ ). Sin embargo, la dentina profunda tratada con hipoclorito presenta un mayor ángulo de contacto de forma estadísticamente significativa ( $P<0,05$ ).

#### IV.1.2. Perfilometría de la superficie.

La variable dependiente estudiada fue la rugosidad superficial de la dentina y las variables independientes fueron la profundidad y el tratamiento recibido, coincidiendo con el protocolo utilizado durante las mediciones de ángulo de contacto.

La tabla 4 muestra la media y la desviación estándar para la rugosidad media,  $R_a$  ( $\mu\text{m}$ ), tomada con el perfilómetro en dentina superficial y profunda. El test ANOVA reveló que el tratamiento de la superficie dentinaria tiene un efecto significativo ( $P<0,001$ ) en la rugosidad de la dentina. Sin embargo, la profundidad de la dentina no tuvo diferencias significativas ( $P=0,38$ ). El grabado ácido aumentó la rugosidad de superficie en ambas dentinas. Cuando la dentina superficial y profunda fueron grabadas y tratadas con hipoclorito de sodio, la rugosidad aumentó significativamente.

En la dentina pulida la rugosidad es igual entre la dentina superficial y profunda. El test  $t$  de Student indicó que la rugosidad de la dentina fue similar para las dentinas superficial y profunda grabadas. En la dentina tratada con hipoclorito la profundidad no influye en la rugosidad. Cuando se compara la dentina superficial con los diversos tratamientos, la dentina pulida y la dentina grabada obtuvieron valores de rugosidad estadísticamente más bajos que la dentina tratada con hipoclorito de sodio. En la dentina profunda todos los tratamientos de superficie obtuvieron valores de rugosidad estadísticamente distintos, siendo la dentina tratada con hipoclorito la más rugosa.

**Tabla 4.** Valores medios en  $\mu\text{m}$  de rugosidad ( $R_a$ ) superficial de la dentina con diferentes tratamientos de superficie.

Tabla 4	Rugosidad $R_a$ ( $\mu\text{m}$ )	
	Dentina	
	Superficial	Profunda
Pulida	0,58 (0,1) B1	0,55 (0,1) C1
Grabada	0,62 (0,1) B2	0,61 (0,1) B2
Tratada con NaOCl	0,79 (0,2) A3	0,78 (0,1) A3

Para cada columna (tipo de tratamiento de superficie), valores con letra distinta son estadísticamente diferentes. Para cada fila (profundidad de la dentina) valores con número distinto son estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

## IV.2. Caracterización de la interfase.

### IV.2.1. Evaluación de la resistencia adhesiva (SBS).

Se consideró como variable dependiente la resistencia al cizallamiento (SBS) y como variables independientes la profundidad de la dentina y el tratamiento de superficie.

La tabla 5 muestra la media y la desviación estándar de la resistencia al cizallamiento (MPa) a diferentes profundidades de la dentina con los distintos tratamientos. Tras el análisis multivariante ANOVA los resultados indican que la profundidad de la dentina ( $F=0.73$ ;  $p=0.541$ ) y el tratamiento dentinario ( $F=0.693$ ;  $p=0.412$ ) no influyeron de forma significativa en el SBS. Las interacciones entre ambas variables tampoco son estadísticamente significativas ( $F=0.361$ ;  $p=0.78$ ) con una  $R=0.38$ . Cuando comparamos las medias dos a dos, los valores de fuerza de unión en dentina superficial *versus* dentina profunda tras el acondicionamiento ácido no fueron estadísticamente distintos ( $t=1.12$ ;  $p=0.11$ ); en el caso de la

comparación de ambas profundidades de dentina tratadas además con NaOCl la diferencia no fue, tampoco, estadísticamente significativa ( $t=0.98$ ;  $p=0.34$ ). Cuando realizamos la comparación de la dentina superficial grabada *versus* grabada y tratada con NaOCl no se encuentran diferencias ( $t= 1.72$ ;  $p=0.102$ ); lo mismo ocurre con la dentina profunda ( $t=0.21$ ;  $p=0.80$ ).

**Tabla 5.** Media y desviación estándar de los valores de SBS (MPa) en dentina superficial y profunda grabadas tratadas y sin tratar con NaOCl ( $p>0,05$ ).

Tabla 5	Fuerza de unión (MPa)	
	Dentina Superficial	Dentina Profunda
Tratamiento dentinario		
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	12,1 (4,3) <sub>a</sub>	8,46 (4,2) <sub>a</sub>
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + NaOCl	9,19 (5,4) <sub>a</sub>	8,15 (6,2) <sub>a</sub>

#### IV.2.2. Análisis Fractográfico.

Al analizar el porcentaje de fallos de los especímenes fracturados de acuerdo con el tratamiento de superficie realizado (tabla 6), se observó que el modo más frecuente de fractura fue el mixto para todos los grupos. No se observaron fallos cohesivos puros en ningún grupo. En general, se observó una tendencia en dentina profunda a disminuir los fallos adhesivos tras la aplicación de hipoclorito sódico.

**Tabla 6.** Porcentaje de la distribución del modo de fallo: A-adhesivo, M-mixto.

Tabla 6	Tipo de fallo (%)			
	Dentina Superficial		Dentina Profunda	
Tratamiento dentinario	A	M	A	M
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	40	60	40	60
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + NaOCl	40	60	20	80

### IV.2.3. Microscopia Electrónica de Barrido.

Se observaron interfases de dentinas superficial y profunda grabadas, y grabadas y tratadas con hipoclorito sódico.

Como la observación de adhesivos dentinarios se hace mejor directamente y no sufre cambios con el procesamiento (Youngson y col., 1992) se usó la observación directa de la interfase de unión.

Las microfotografías obtenidas son de interfases conseguidas con el sistema adhesivo *P&B NT*. Las microfotografías más representativas de los tratamientos de superficie con el sistema adhesivo estudiado (*P&B NT*) se muestran del siguiente modo: la figura 26 corresponde a dentina superficial que ha sido grabada con ácido ortofosfórico; la figura 27 es de dentina superficial tras ser tratada con ácido ortofosfórico e hipoclorito sódico; la figura 28 muestra dentina profunda tras grabado; y la figura 29 es de dentina profunda tras su grabado y posterior tratamiento con NaOCl.

En las fotografías de microscopía electrónica de barrido podemos observar que cuando se aplica el sistema adhesivo estudiado (*P&B NT*), en la interfase dentina-resina (figs. 26 y 28) se forman *microtags* y *macrotags* propios de la técnica de grabar y lavar.

En general en dentina, siempre que aplicamos ácido ortofosfórico, se forma una capa híbrida gruesa y unos *tags* de resina infundibulares, gruesos y numerosos (figs. 26 y 28).

Cuando aplicamos NaOCl en la superficie de dentina después de grabar y lavar, disminuye el espesor de la capa híbrida, a veces casi llega a desaparecer. En cualquiera de los casos, se puede observar en las microfotografías que los *tags* se presentan con menor número de prolongaciones secundarias (figs. 27 y 29).

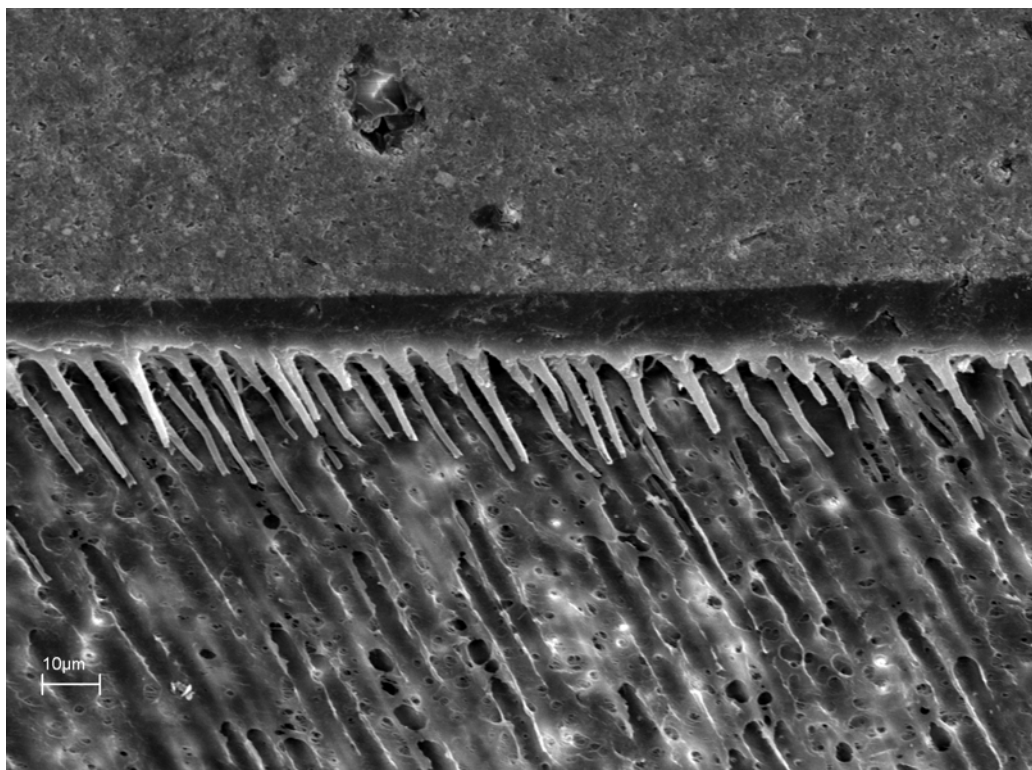


Fig. 26. Microfotografías de MEB de la interfase resina-dentina superficial cuando se usa el sistema adhesivo *P&B NT* tras el grabado ácido. (a) Se observa una capa híbrida fina y uniforme, con *tags* de resina anchos.

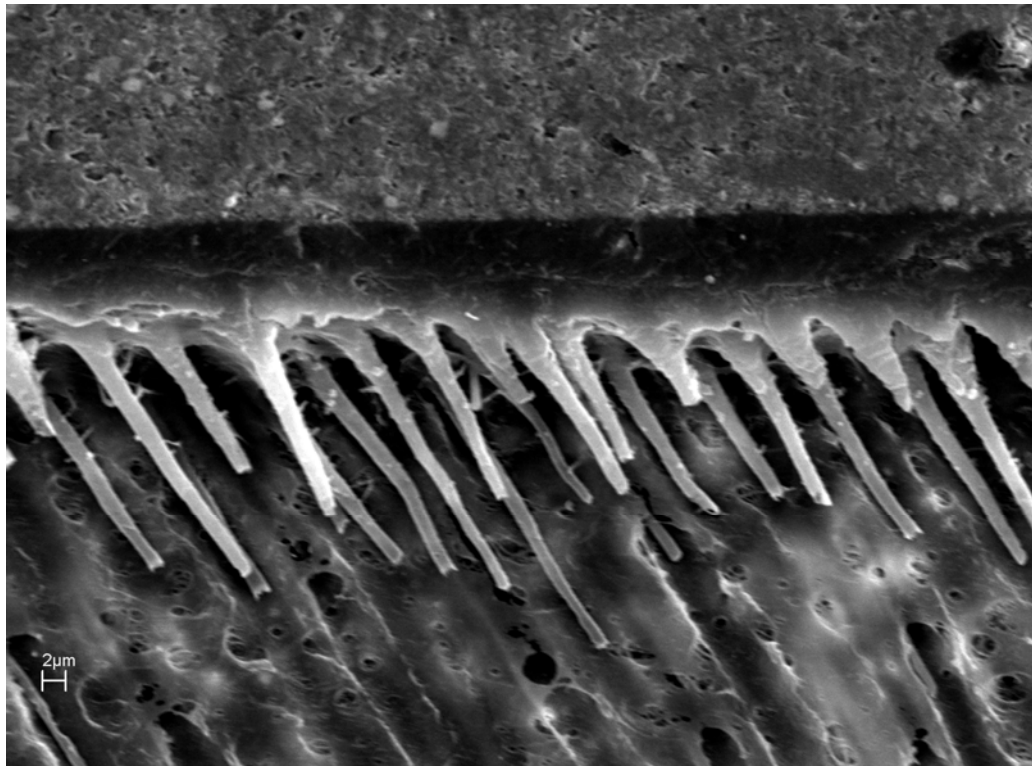


Fig. 26. (b) A mayor aumento se puede observar que los *tags* tienen forma de embudo y que las prolongaciones laterales de los *tags* son pocas y cortas.

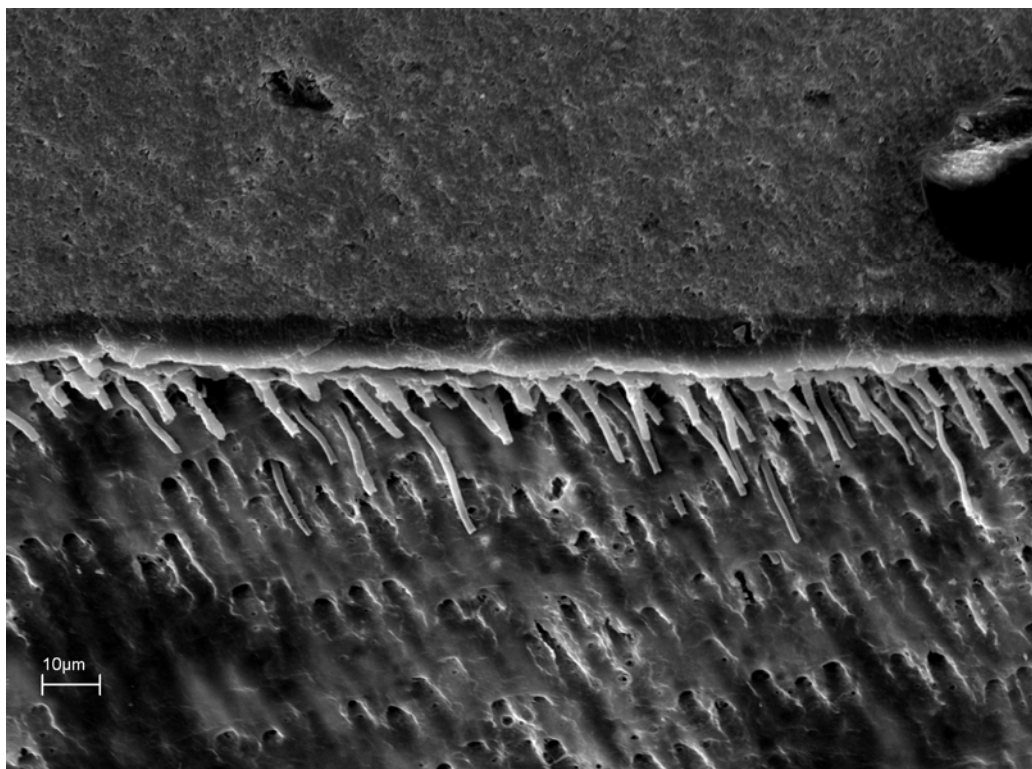


Fig. 27. Microfotografía de MEB de la interfase resina-dentina superficial cuando se usa el sistema adhesivo *P&B NT* tras el tratamiento de grabado ácido y posterior aplicación de NaOCl. (a) Se observa que la capa híbrida es casi inexistente y los *tags* de resina son más cortos que en la dentina grabada

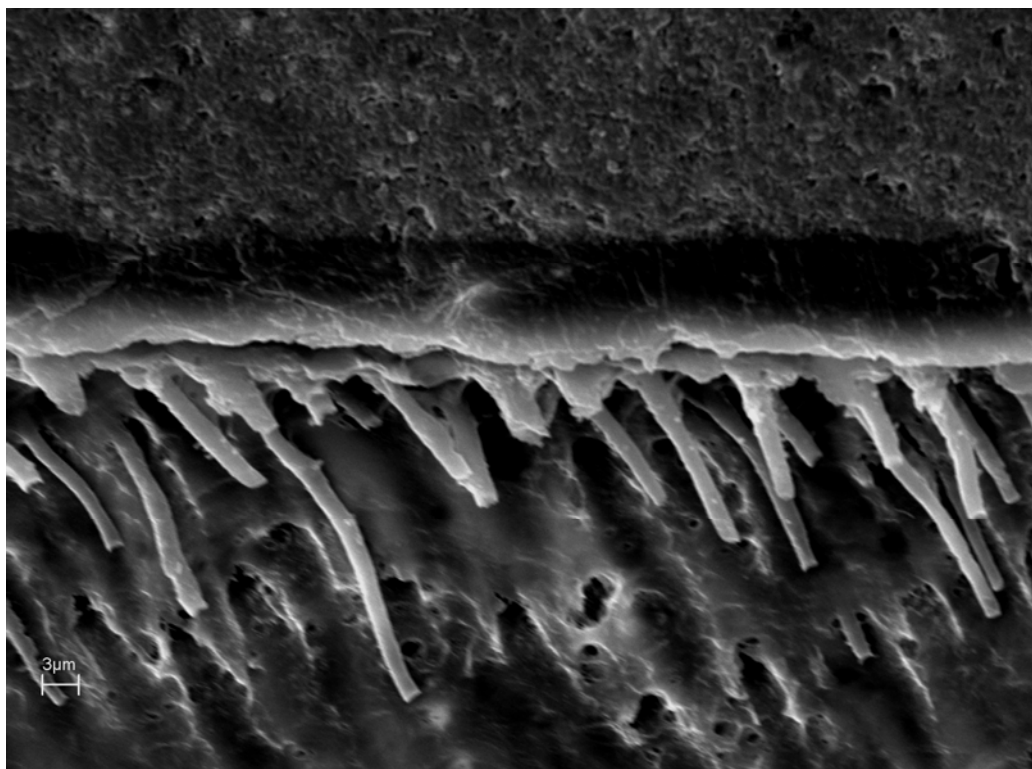


Fig. 27. (b) A mayor aumento se puede observar que los *tags* son cortos y sin conexiones laterales. Tienen una forma cilíndrica y nacen directamente del adhesivo.



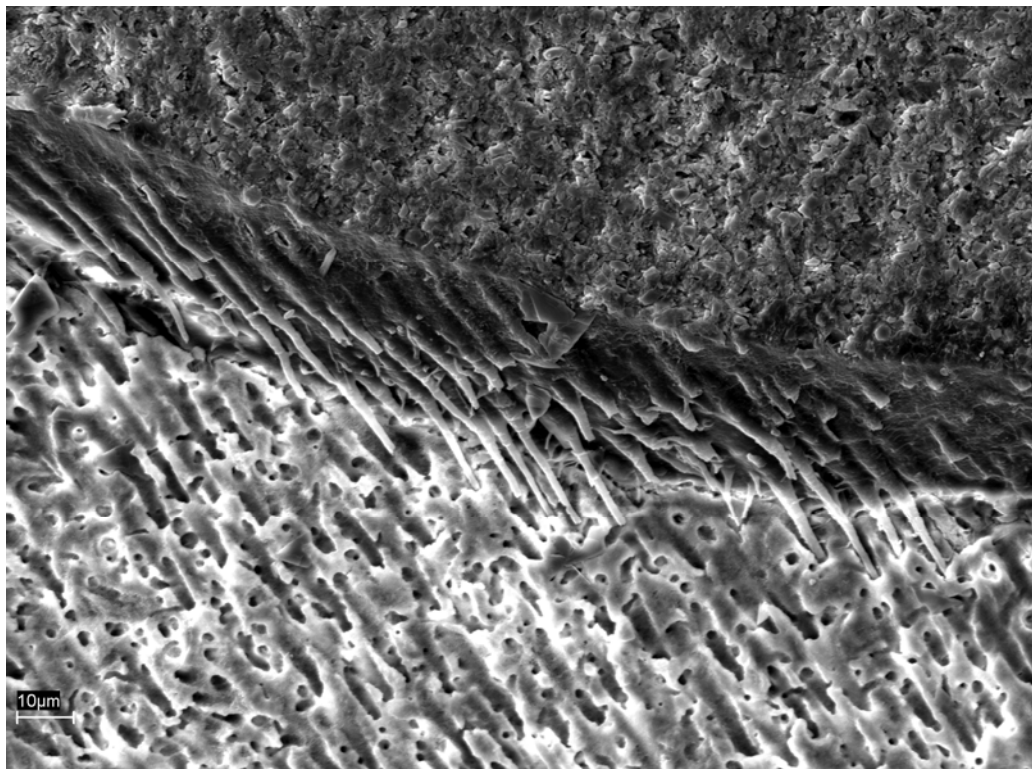


Fig. 28. Microfotografía de MEB de la interfase resina-dentina profunda cuando se usa el sistema adhesivo *P&B NT* tras el grabado ácido. (a) Se observa un gran número de largos *tags* de resina y la remoción de la dentina peritubular.

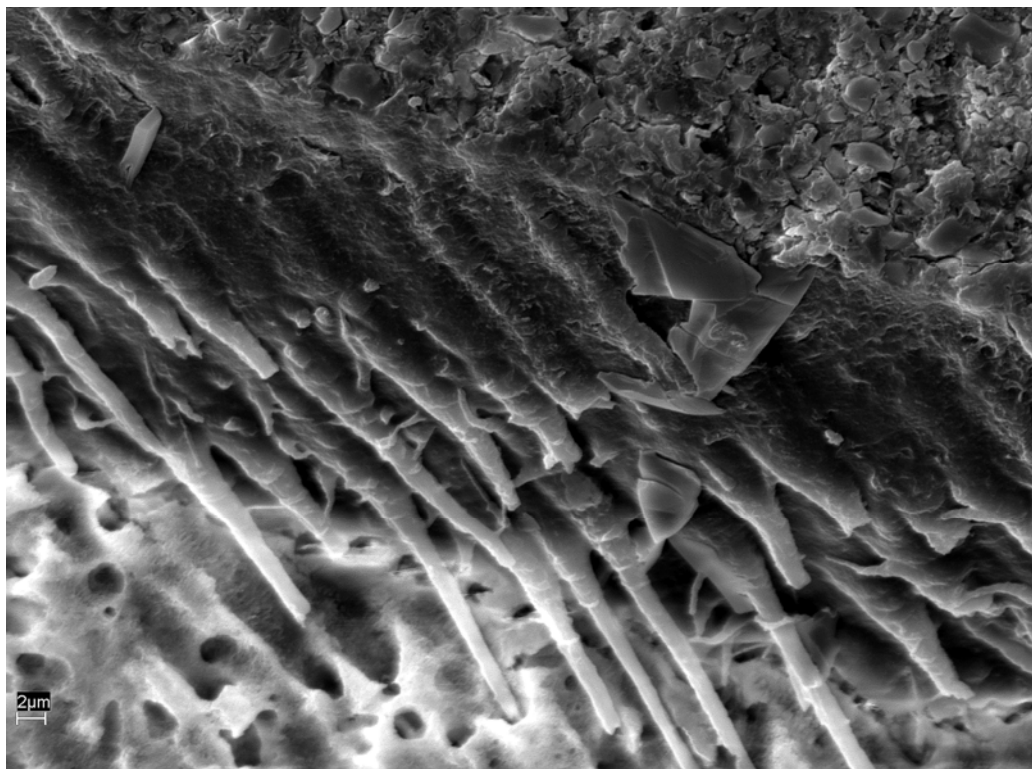


Fig. 28. (b) A mayor aumento se puede observar la forma infundibular de los *tags* de resina y sus conexiones laterales.

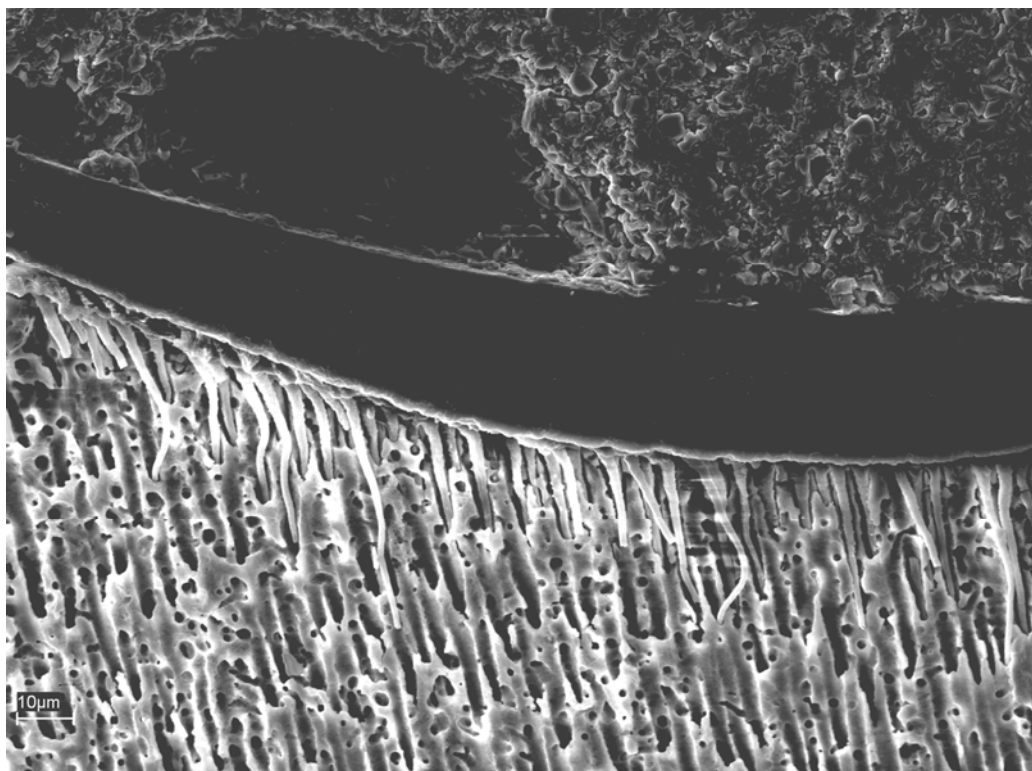


Fig. 29. Microfotografía de MEB de la interfase resina-dentina profunda cuando se usa el sistema adhesivo *P&B NT* tras el tratamiento de grabado ácido y posterior aplicación de NaOCl. (a) Se observa un mayor grosor de adhesivo y la capa híbrida casi no existe.

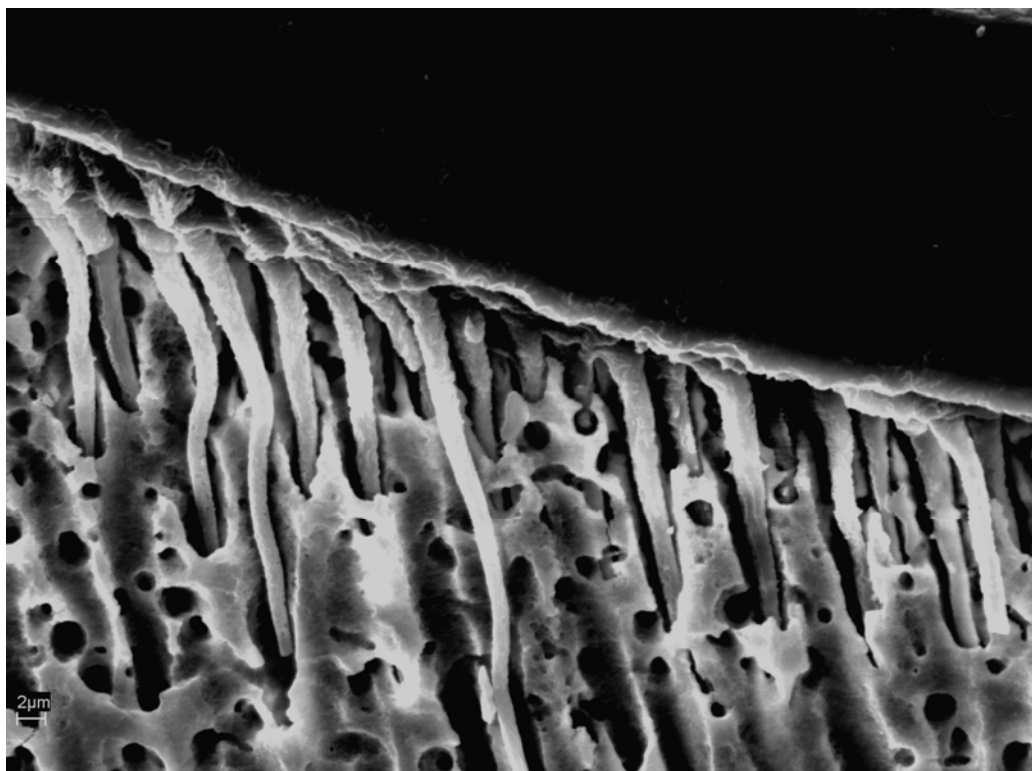


Fig. 29. (b) A mayor aumento se puede observar que los *tags* de resina salen prácticamente del adhesivo, son largos y que tienen una forma cilíndrica.



## V. DISCUSIÓN



## V. DISCUSIÓN

Previamente al análisis e interpretación de los resultados obtenidos es necesario señalar algunos aspectos del método utilizado.

Siguiendo las recomendaciones de la *International Standards Organization* (ISO), en este estudio solo se usaron molares humanos permanentes, sanos y no restaurados. El tiempo transcurrido tras la extracción de los especímenes es importante debido al deterioro que puede sufrir el contenido proteico de la dentina. Aunque lo ideal es utilizarlos dentro del mes de la extracción, el experimento se puede demorar hasta seis meses sin que se produzcan cambios significativos que puedan alterar los resultados (ISO/TS 11405: 2003(E)).

El medio de conservación es también importante por las alteraciones que puede inducir en los tejidos dentales. En este estudio se ha seguido el indicado por la norma ISO/TS 11405: 2003(E) que consistió en el almacenamiento en una solución de cloramina al 0,5% hasta, como máximo, 1 mes después de su extracción.

Los experimentos se pueden realizar, dentro de un mismo espécimen, en distintas zonas de su anatomía. Es muy importante seguir un proceso de

estandarización en la selección y preparación de la zona de estudio para hacer reproducible el experimento y poder equiparar los resultados con los obtenidos por otros investigadores. La dentina utilizada (en los niveles superficial y profundo de manera estandarizada) es también empleada por muchos otros investigadores, lo que facilita realizar comparaciones con otros estudios.

Otro apartado del método seguido ha sido la aplicación de técnicas que permiten el análisis de fenómenos interfaciales como la tensión superficial y el ángulo de contacto. Para este fin, se ha utilizado la técnica *ADSA* en sus variantes *ADSA-P* y *ADSA-CD*. La aplicación de la técnica *ADSA* tiene como principal ventaja un análisis no invasivo, en el que el líquido de estudio se puede mantener en unas condiciones físicas estables, obteniéndose resultados consistentes.

La técnica *ADSA-P* se llevó a cabo para determinar la tensión superficial de un líquido-fluido a partir de la geometría de un menisco axisimétrico formado por una gota pendiente o una gota sésil (Cheng y Neumann, 1992). Pero esta técnica presenta algunas limitaciones que han motivado la utilización en este estudio de la técnica *ADSA-CD* en la determinación de un ángulo de contacto líquido-sólido (Wege y cols., 2003; Li y cols., 1992; Cheng y cols., 1990; Skinner y cols., 1989). Las limitaciones que presenta *ADSA-P* son básicamente dos. En primer lugar, la asimetría que presenta la gota al ser depositada sobre el sustrato dentinario. La dentina es una superficie muy heterogénea y con grandes irregularidades. Esto hace que al depositar una gota se produzca una extensión no homogénea sobre la superficie, es decir, la gota se extiende más por una zonas que por otras. El resultado es una gota con una geometría totalmente asimétrica. Si se realizara un análisis del perfil de la gota, el resultado variaría según la orientación de la gota, ya que el ángulo de contacto varía según la zona de la gota. En segundo lugar, existe un problema técnico en la determinación del ángulo de contacto a partir del perfil. La técnica *ADSA-P* presenta algunas limitaciones en la medida de los ángulos de contacto menores a 20° ó 30° (Cheng y cols., 1990; Skinner y cols., 1989). El sustrato utilizado para realizar las medidas es un medio biológico hidratado que proporciona valores de ángulos de contacto bajos. Por este motivo se utilizó la técnica *ADSA-CD*. La precisión de *ADSA-P* en la localización de las coordenadas

de los puntos del perfil de la gota desciende enormemente cuanto menor es el ángulo de contacto a partir de 20°.

Sin embargo, *ADSA-CD* ha presentado una dificultad técnica importante. Mientras que en la determinación del ángulo de contacto de una gota a partir de su perfil (*ADSA-P*) no es necesario conocer el volumen, en el método *ADSA-CD* es fundamental. A este hecho se une la dificultad de obtener volúmenes muy pequeños para evitar que la gota se salga del campo de visión de la cámara y se extienda a zonas del espécimen no deseadas.

Como consecuencia, se hace necesaria la utilización de instrumental de alta precisión que proporcione volúmenes muy pequeños. La micropipeta es uno de los aparatos más fiables para conseguir volúmenes pequeños exactos. En este caso, como las resinas contaminan e inutilizan cualquier micropipeta, se recurrió a una pipeta de puntas desechables (micropipeta de *Eppendorf*).

En un trabajo que valora la eficacia adhesiva, uno de los requisitos básicos para que se establezca una buena adhesión es que la humectabilidad sea elevada (Aguilar-Mendoza y cols., 2008a; Wege y cols., 2003; Erickson, 1992), es decir, que el adhesivo aplicado se extienda ampliamente sobre la superficie del sustrato dentario acondicionado (Perdigão y Ritter, 2001). Esta variable aporta una información importante sobre la relación que se produce entre adhesivo y el adherente o sustrato, en nuestro estudio la dentina. Esta interacción puede ser evaluada gracias a la determinación de ángulo de contacto formado entre un líquido y la superficie de la dentina (Perdigão y Ritter, 2001).

El ángulo de contacto va a influir en otro aspecto: en la eliminación de burbujas de aire (Combe, 1990; McCabe, 2006; Macchi, 2007). Al poner un líquido sobre una superficie rugosa van a quedar atrapadas una cantidad de burbujas de aire dependientes del ángulo de contacto entre el líquido y la superficie (Darvel, 2002; Pazinato y cols., 2006). Así, a mayor cantidad de burbujas, mayor ángulo de contacto. Éste aspecto tiene importancia porque esa zona de aire no va a contactar con el adhesivo, disminuyéndose así la fuerza de adhesión. Una humectabilidad elevada (bajo ángulo de contacto) implica un contacto íntimo entre el adhesivo y la



dentina, contribuyendo así, a una mejor adhesión (Aguilar-Mendoza y cols., 2008a; Toledano y cols., 1999a).

En relación al sustrato o adherente, como se ha señalado en el capítulo de introducción, los mejores valores de humectabilidad se obtendrán cuando dicho sustrato presente la mayor energía libre superficial posible (O'Brien, 1997; McCabe, 2006)

Como el primer paso de la interacción entre el adhesivo y el sustrato es la humectación del sustrato, el objetivo de este estudio fue investigar el mecanismo de humectación de una manera exhaustiva a través de la relación de la capacidad de difusión del agua y de un sistema adhesivo basado en acetona y que contiene nanorrelleno (*P&B NT*), en diferentes superficies dentinarias pulidas (pulida y cubierta de barrillo dentinario, grabada, o grabada y tratada con hipoclorito) y a diferentes niveles de dentina (superficial y profunda).

La humectabilidad es una variable fuertemente dependiente de la rugosidad, de la composición química y del estado de hidratación, y puede ser influida por la densidad numérica de los túbulos (Toledano y cols., 1999a; Osorio y cols., 1996; Milosevic, 1992). Para que se obtenga una elevada humectabilidad es necesario que la energía de superficie del sustrato sea más alta que la tensión superficial del adhesivo (Erickson, 1992; Eliades, 1994; Toledano y cols., 1999a).

La rugosidad fue relacionada con la humectabilidad en la ecuación de Wenzel, quien relató que irregularidades de la superficie sólida influyen en las mediciones del ángulo de contacto, y expresó sus resultados en la siguiente ecuación (Wenzel, 1936):

$$r = \frac{\cos \theta_1}{\cos \theta_2} \quad (4)$$

donde:

- $r$  = proporción entre área observada y área aparente o proyectada
- $\cos \theta_1$  = coseno del ángulo de contacto medido o aparente
- $\cos \theta_2$  = coseno del ángulo de contacto real

Esta ecuación indica que para ángulos de contacto menores de  $90^\circ$  medidos en superficies lisas, un aumento de la rugosidad disminuiría más ese ángulo; sin embargo, si el ángulo es mayor que  $90^\circ$ , un aumento de la rugosidad, anómalamente aumenta ese ángulo de contacto.

El ángulo de contacto del agua también es dependiente de la hidratación de la dentina. La dentina es un composite biológico naturalmente hidratado, y si se deshidrata después de una desmineralización parcial, la matriz de colágeno expuesta puede colapsarse (Vaidyanathan y Vaidyanathan, 2009; Kanca, 1996).

En el presente estudio, nuestros resultados indican que el grabado ácido produce una disminución del ángulo de contacto y un aumento de la rugosidad superficial de la dentina. El tratamiento de la superficie con hipoclorito de sodio disminuye significativamente el ángulo de contacto. Estos cambios fueron más evidentes en la dentina profunda. En lo que respecta a la resistencia adhesiva, la profundidad de la dentina y el tratamiento con hipoclorito no tuvieron influencia de forma estadísticamente significativa. Por tanto, la hipótesis nula fue parcialmente rechazada.

## ÁNGULO DE CONTACTO

Clásicamente se supone que la dentina profunda debe obtener ángulos de contacto menores que la dentina superficial (Kinney y cols., 1995; Demaria y cols., 1995; Toledano y cols., 1999a) por la mayor densidad tubular y el mayor diámetro de sus túbulos. Así, la dentina superficial y la dentina profunda se estudiaron separadamente para determinar la influencia de la densidad numérica de los túbulos en la rugosidad de superficie y en el ángulo de contacto. En nuestro estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni en los especímenes

de dentina pulida, ni en los de dentina grabada, cuando se compararon los ángulos de contacto en dentina superficial y dentina profunda. La dentina es un tejido compuesto por dos sustratos diferentes: el colágeno, que tiene una baja energía superficial y la hidroxiapatita, que tiene una alta energía superficial (Toledano y cols., 2003a; Toledano y cols., 1999a; Akinmade y Nicholson, 1993). Kinney y cols. (1996) obtuvieron valores de nanodureza más bajos en dentina cerca de la cámara pulpar, sugiriendo la existencia de menor cantidad de contenido mineral (Fuentes y cols., 2003), lo que puede contribuir a una energía de superficie más baja porque, como es bien sabido, la hidroxiapatita tiene mayor energía superficial libre que aquella dentina que tiene más contenido de colágeno (Ramos y cols., 2009). A ello se añade que la dentina superficial al tener menos túbulos, no está tan sujeta a la presión hidrostática del fluido dentinario. Además, es posible que, aunque estudios previos hablen de una mayor rugosidad de la dentina profunda, el superior número de túbulos y su mayor apertura dé lugar a un atrapamiento no deseado de burbujas de aire que pueda aumentar el ángulo de contacto (Darvel, 2002; Aguilar-Mendoza y cols., 2008a; Ramos y cols., 2009).

El grabado ácido de un sustrato es un tratamiento importante para mejorar la adhesión pues es un paso que va a cambiar la morfología, la química y las características energéticas de la superficie (Vaidyanathan y Vaidyanathan, 2009; Rosales y cols., 2001). Después del grabado ácido la energía de superficie del sustrato debería disminuir, y consecuentemente el ángulo de contacto debería aumentar, por la exposición de las fibras colágenas y por la pérdida de contenido mineral, sin embargo hay un aumento de la apertura de los túbulos y de las irregularidades de la superficie lo que contribuye a la disminución del ángulo de contacto (Wege y cols., 2003; Rosales y cols., 2001; Marshall y cols., 1997; Van Meerbeek y cols., 1992). Erickson (1992) descubrió que después de la aplicación de EDTA y de una solución de oxalato (1% ácido nítrico, 2% ácido fosfórico y 2,5% oxalato de aluminio) hay una disminución en la tensión de superficie. Panighi y G'Sell (1992) también obtuvieron una relación directa entre el grado de mineralización y la capacidad de humectación del adhesivo. Para estos autores el parámetro dominante en la humectabilidad es la energía libre intrínseca de la dentina intertubular, que por su parte depende de las concentraciones de calcio y fósforo. Attal y cols. (1994) no encontraron diferencias en la energía libre de la

dentina después del grabado ácido, pero sugirieron que el grabado ácido no promueve la humectación porque la desmineralización origina una superficie hidrofóbica.

En el presente trabajo de investigación, se obtuvo una disminución significativa del ángulo de contacto medio (aumento de la humectabilidad) tanto en la dentina superficial como profunda después del grabado ácido, lo que está de acuerdo con otros estudios (Aguilar-Mendoza y cols., 2008a; Wege y cols., 2003; Rosales y cols., 1999; Vargas y cols., 1997). Siguiendo la ecuación de Wenzel (Wenzel, 1936), la extensión en la cual una gota de líquido va a mojar la superficie dentinaria obedece a las interacciones químicas entre el líquido y la dentina, depende de consideraciones físicas como la acción capilar, y también de la rugosidad de la dentina. Dicha rugosidad aumenta después del grabado ácido (Aguilar-Mendoza y cols., 2008a; Rosales y cols., 2001; Rosales y cols., 1999; Kinney y cols., 1995; Marshall y cols., 1995; Marshall y cols., 1993); así que se espera una disminución del ángulo de contacto (Wenzel, 1936). En la dentina pulida, los ángulos de contacto observados son menores de 90°; después del grabado ácido, incluso partiendo del presupuesto que la energía de superficie va a disminuir por la exposición de las fibras de colágeno, los ángulos de contacto se vuelven más pequeños debido a un aumento de la rugosidad total de superficie. Con el grabado ácido la dentina peritubular se disuelve y los lúmenes de los túbulos son ensanchados lo que hace que la dentina sea mucho más porosa (Vaidyanathan y col., 2009; Rosales y cols., 1999; Kinney y cols., 1995; Marshall y cols., 1995; Marshall y cols., 1993) y rugosa (Wege y cols., 2003). Los cambios morfológicos podrían producir también una disminución del ángulo de contacto debido a la acción capilar una vez que, normalmente, los túbulos están llenos de fluido y naturalmente saturados.

Cuando se trató con hipoclorito sódico la dentina superficial y la dentina profunda, a pesar de que la rugosidad dentinaria hubiese aumentado en ambas dentinas, sin diferencias entre ellas, el ángulo de contacto del agua solo disminuyó en la dentina profunda. Esto puede ser debido a la apertura de los túbulos dentinarios, al aumento de la rugosidad y de la porosidad (Wege y cols., 2003), favoreciendo también así un aumento de la capilaridad en dentina profunda. La

remoción del colágeno superficial disminuye la hidrofobicidad de la dentina y contribuye al aumento de su rugosidad (Wege y cols., 2003). Como ya se ha referido, el presente trabajo no obtuvo diferencias en la rugosidad de la dentina superficial y profunda tratadas con hipoclorito de sodio. Sin embargo, nuestros resultados no son comparables a otros artículos que miden valores de rugosidad mediante otras técnicas, dado el tamaño del campo de trabajo tan diferente que se utiliza respecto del empleado en el presente estudio (Silikas y cols., 1999; Mountouris y cols., 2004; Fawzy y cols., 2008).

El secado después del grabado ácido produce un colapso de la red de colágeno. Esto puede ser debido a la acción de las fuerzas de tensión superficial en la interfase aire-líquido, lo que ejercería una poderosa fuerza que causaría la pérdida de volumen de la matriz de colágeno (Van Meerbeek y cols., 1992). El hipoclorito de sodio (NaOCl) es un agente proteolítico no específico que, a una temperatura ambiente, remueve de manera parcial los componentes orgánicos y cambia la composición de la dentina (Cheng y cols., 1990; Habelitz y cols., 2002). En solución acuosa, el hipoclorito sódico forma radicales superóxido ( $O_2^-$ ) e induce oxidaciones que fragmentan las cadenas largas de las proteínas (Toledano y cols., 2006; Habelitz y cols., 2002). También se produce la cloración de los grupos terminales de las proteínas y la formación de ácido hipocloroso (Weiss y cols., 1982; Toledano y cols., 2006). Después del tratamiento con NaOCl, se espera una disminución del ángulo de contacto de la dentina, porque el hipoclorito sódico origina una superficie hidrofílica (Panighi y G'Sell, 1992; Attal y cols., 1994; Wenzel, 1936). El tratamiento con NaOCl remueve, en parte, las fibras de colágeno expuestas y aumenta el diámetro de las aperturas tubulares de la dentina profunda que fue tratada con hipoclorito (Perdigão y cols., 1999). En la dentina superficial los ángulos de contacto medios observados con el agua son superiores para la dentina grabada y tratada con hipoclorito cuando son comparados con los de la dentina solamente grabada, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Estudios previos también han demostrado que la humectabilidad de la dentina superficial no aumenta cuando la superficie grabada es tratada con el hipoclorito de sodio (Toledano y cols., 1999a).

En el presente estudio, se encontró una disminución del ángulo de contacto con agua de la dentina profunda después de su grabado ácido y de su tratamiento con hipoclorito. Otras investigaciones (Wege y cols., 2003; Toledano y cols. 1999; Inaba y cols. 1995), también obtuvieron que el tratamiento con NaOCl mejoró la permeabilidad a través de los túbulos del agua por la remoción de los componentes orgánicos de la dentina y por el ensanchamiento de los túbulos cerca de la superficie dentinaria externa. Después del tratamiento con el hipoclorito sódico, la dentina se transformó en una estructura porosa con múltiples irregularidades, permitiendo una buena retención mecánica (Vargas y cols., 1997). Este sustrato es rico en cristales de hidroxiapatita expuestos (Wakabayashi y cols., 1994) y puede dar lugar a una interfase estable a lo largo del tiempo porque está esencialmente compuesta por minerales.

Investigaciones anteriores han demostrado que el tratamiento con hipoclorito expone un laberinto de túbulos secundarios laterales, no observado en las superficies de dentina grabadas (Prati y cols., 1999), lo que puede causar alguna disminución del ángulo de contacto, con el consecuente aumento en la humectabilidad (Perdigão y cols., 1999; Inai y cols., 1998).

Los resultados obtenidos en la dentina tratada con hipoclorito sódico cuando se midió el ángulo de contacto con el agua muestran la influencia del sustrato en la humectabilidad. Hay diferencias químicas y morfológicas entre la estructura de la dentina superficial y profunda que pueden causar esta variación. El número relativo de túbulos expuestos, el área de dentina peritubular y el área ocupada por la dentina intertubular varían dramáticamente dependiendo de la profundidad de la dentina que está siendo observada. Pashley (1989) calculó que estas áreas pueden ir desde aproximadamente 22% (número relativo de túbulos expuestos), 60% (área de dentina peritubular), y el 18% (área de dentina intertubular) cerca de la pulpa hasta aproximadamente 1%, 3% y 96% cerca de la unión amelo-dentinaria (UAD) respectivamente. Además, Pashley (1989) demostró que los diámetros de los túbulos dentinarios son cerca de 2  $\mu\text{m}$  más anchos en la dentina profunda cuando se comparan con los de la dentina superficial. Teniendo en cuenta que un área tubular mayor disminuye el ángulo de contacto, puede ser que la infiltración de un líquido en la dentina profunda sea más eficaz que en la dentina superficial. El

razonamiento tras esta hipótesis es que la rugosidad de la dentina profunda tratada con hipoclorito de sodio es mayor y que hay más túbulos por unidad de área por donde puede ocurrir difusión lateral del líquido, además de la difusión vertical hacia la dentina intertubular desmineralizada desde la superficie (Toledano y cols., 1999a). Después del grabado ácido y del tratamiento con NaOCl de la dentina grabada, la dentina profunda es más humectable cuando es comparada con la dentina superficial, probablemente debido al aumento de la energía de superficie y al aumento de la rugosidad que, posiblemente, suponga un aumento de la acción capilar del sustrato.

En el ángulo de contacto medido con el sistema adhesivo *P&B NT*, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre dentina superficial y profunda grabadas, y superficial grabada y tratada con hipoclorito. En la dentina profunda grabada y tratada con hipoclorito hubo un aumento del ángulo de contacto. El *Prime & Bond NT* es un sistema adhesivo que contiene nanorrelleno (*NT = NanoTechnology*). Los sistemas adhesivos que contienen nanorrelleno son más viscosos y pueden no formar una película fina con facilidad (Walshaw y cols., 2003) como se puede observar en la figura 29a, de microscopía electrónica de barrido. Aparentemente las nanopartículas de otros sistemas adhesivos no penetran en los túbulos dentinarios y el adhesivo se infiltra por difusión, probablemente debido a la acción capilar (Tam y cols., 2001; Walshaw y cols., 2003). Hay autores (Walshaw y cols., 2003; Gallo y cols., 2001; Perdigão y cols., 2000) que observaron el mismo fenómeno con *Prime & Bond NT*, y sugirieron que las nanopartículas se aglomerarían en la superficie impidiendo una infiltración eficaz de la dentina desmineralizada. Además, la estructura laberíntica presente en la dentina combinada con la red de colágeno, da lugar a espacios nanométricos alrededor de las fibras de colágeno, lo que podrá promover la formación de bolsas de aire en la pared de los túbulos (Ramos y cols., 2009; Darvel, 2002). Esto combinado con un aumento de la viscosidad del adhesivo podrá contribuir a un aumento del ángulo de contacto. En otros estudios (Toledano y cols., 1999a), en que la humectabilidad fue estudiada con otros imprimadores, se obtuvieron ángulos de contacto más bajos para los *primers* cuando fueron comparados con el ángulo de contacto del agua. En la presente investigación, los ángulos de contacto del adhesivo testado fueron mayores que los obtenidos con el agua. Esto es, probablemente, debido a la

presencia de nanorrelleno en la formulación de *P&B NT* que actúa impidiendo la penetración del líquido en las porosidades de la dentina intertubular (Perdigão y cols., 2000). El aumento de la viscosidad (Walshaw y cols., 2003; Pazinato y cols., 2006), el nanorrelleno (Walshaw y cols., 2003; Gallo y cols., 2001; Perdigão y cols., 2000) y el posible atrapamiento de burbujas de aire (Ramos y cols., 2009; Darvel, 2002) pueden explicar algunos de los resultados obtenidos en este trabajo, como el aumento del ángulo de contacto para el sistema adhesivo *P&B NT* cuando es comparado con el agua. Otros autores (Rosales y cols., 2001) obtuvieron resultados similares cuando compararon el ángulo de contacto de otros adhesivos con el ángulo de contacto del agua.

El tratamiento de la dentina con hipoclorito sódico promueve la humectabilidad de los *primers*. Barbosa y cols. (1994) descubrieron que la permeabilidad de la dentina era mejorada debido a la remoción de los materiales orgánicos. El aumento del ángulo de contacto que se obtuvo con el adhesivo puede ser debido al factor nanorrelleno, lo que aumenta la viscosidad del adhesivo y lo que podrá disminuir su capacidad de penetración en la estructura dentinaria tratada con hipoclorito. Además, superficies muy rugosas serían capaces de desafiar la capacidad de mojado de un líquido, pues pueden atrapar aire en el interior de sus propias irregularidades (Darvel, 2002; Pazinato y cols., 2006). Gwinnett (1993) defiende que la fuerza de adhesión interfacial óptima es debida a la difusión y a la polimerización de la resina en la zona parcialmente desmineralizada, enfatizando la importancia de las retenciones micromecánicas en asociación con la fase inorgánica de la dentina, porque la adhesión basada en estructuras proteicas (colágeno) es inestable a lo largo del tiempo. Otros autores descubrieron aumentos en las fuerzas de adhesión después del tratamiento con NaOCl de la dentina (Tanaka y Nakai, 1993).

Aparentemente, hay dos formas de promover y optimizar la adhesión a la dentina. La primera es mejorar la impregnación del sustrato con monómero, y la segunda es aumentar la difusibilidad o penetrabilidad del sustrato dentinario. Cumplir uno o ambos de estos objetivos serviría para aumentar la impregnación, penetración y el sucesivo ensamblaje del adhesivo y de los componentes dentinarios (Nakabayashi y Takarada, 1992). En el presente estudio, los valores



obtenidos muestran que la dentina grabada y tratada con hipoclorito sódico puede ser un sustrato adecuado para la humectación por resinas hidrofílicas (HEMA u otras) debido a su tensión de superficie y a su morfología. La polimerización de resina en el interior de la superficie dentinaria porosa garantiza un anclaje sólido para las restauraciones en resina compuesta y probablemente un sellado dentinario adecuado (Toledano y cols., 1999a). Como se puede observar en la figura 27, el tratamiento con NaOCl de la dentina superficial grabada, origina una interfase resina-dentina donde la capa híbrida es casi inexistente. En la figura 29, el tratamiento con NaOCl de la dentina profunda grabada, crea una interfase resina-dentina donde se observa un mayor grosor de adhesivo y que la capa híbrida casi no existe, saliendo los *tags* de resina prácticamente del adhesivo.

Por tanto, el papel cualitativo y cuantitativo de las fibras de colágeno en la optimización de la adhesión debe ser cuestionado. Se necesitan más investigaciones para determinar si la ausencia del colágeno no solo promueve la infiltración de la resina, sino también produce una preservación de la fuerza adhesiva y del sellado marginal en la interfase entre la resina y la dentina. Además, la aplicación del NaOCl puede tener beneficios clínicos, puesto que es un agente antimicrobiano que logra desinfectar y limpiar el tejido dentario tratado de cualquier desecho orgánico. Un posible mecanismo de grabado inverso (remoción de los componentes orgánicos de la dentina intacta) merece una investigación más profunda.

## RUGOSIDAD

Otra evaluación realizada en el presente trabajo ha sido la determinación de la rugosidad de la dentina. Se usó un perfilómetro de superficie. Este aparato actúa como un sistema invasivo, ya que la punta de diamante recorre la superficie de estudio y puede inducir cambios o contaminar. Por tanto, teniendo esto en cuenta, para cada espécimen se realizaron primero las medidas del ángulo de contacto y después las de rugosidad.

La dentina superficial y la dentina profunda se estudiaron separadamente para determinar la influencia de la densidad numérica de los túbulos en la

rugosidad de superficie. Según los resultados obtenidos, la profundidad de la dentina no influyó en la rugosidad de la misma de una forma estadísticamente significativa. El presente trabajo fue realizado con un método que obtiene datos en centésimas de micrómetros, cuyos valores pueden no ser comparables a otros estudios que miden  $R_a$  con otros procedimientos más discriminativos y con otro tamaño de campo de estudio. Estas investigaciones indican que la dentina profunda es más rugosa que la superficial. El razonamiento tras esa conclusión es que en la dentina profunda la densidad y el área de los túbulos dentinarios son mayores que en la dentina superficial (Rosales y cols., 2001; Rosales y cols. 1999; Marshall y cols., 1997; Garberoglio y col., 1976). Nuestros resultados de rugosidad ( $R_a$ ) están de acuerdo con los resultados obtenidos en nuestro estudio con respecto a los valores del ángulo de contacto, a pesar de que las diferencias entre los ángulos no hayan sido significativas. En la dentina superficial, los ángulos de contacto observados fueron inferiores a los de la dentina profunda, sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas entre ellos. Esta diferencia de valores medios puede ser debida a la mayor rugosidad de la dentina superficial en nuestro estudio cuando es comparada con la dentina profunda. La dentina superficial puede ser más irregular por tener una mayor cantidad de dentina intertubular. Sin embargo, la dentina profunda, a pesar de tener menor cantidad de dentina intertubular, tiene más cantidad de túbulos lo que también aumenta su rugosidad.

La rugosidad de la dentina aumenta después del grabado ácido (Aguilar-Mendoza y cols., 2008a; Rosales y cols., 2001; Rosales y cols., 1999; Cagidiaco y cols., 1997; Kinney y cols., 1995; Marshall y cols., 1995; Marshall y cols., 1993) pues los cambios originados llevan a una superficie más irregular (Van Meerbeek y cols., 1992; Van Meerbeek y cols., 1993a). Sin embargo, en nuestro estudio ese aumento no fue estadísticamente significativo en la dentina superficial, pero tuvo significación estadística en la dentina profunda. El grabado ácido remueve el barrillo dentinario y el contenido mineral de la dentina intacta subyacente (Toledano y cols., 1999a), lo que desbloquea los túbulos ocluidos por el barrillo dentinario (Wege y cols., 2003). De este modo, con el grabado ácido la dentina peritubular se disuelve y los lúmenes de los túbulos son ensanchados lo que hace que la dentina sea mucho más porosa (Wege y cols., 2003; Rosales y cols., 2001; Rosales y cols.,

1999; Kinney y cols., 1995; Arends y cols., 1995; Marshall y cols., 1995; Marshall y cols., 1993). Así, la superficie dentinaria grabada presenta un mayor número de accidentes y una mayor rugosidad.

Cuando se trataron con NaOCl la dentina superficial y la dentina profunda, la rugosidad dentinaria aumentó en ambas dentinas, sin diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Esto puede ser debido, como se ha referido más arriba, a la apertura de los túbulos dentinarios y al aumento de la porosidad (Wege y cols., 2003). La remoción del colágeno superficial aumenta la rugosidad de la dentina y contribuye a la disminución la hidrofobicidad (Wege y cols., 2003). Los estudios que obtuvieron resultados diferentes de los nuestros han utilizado otros métodos de evaluación y tamaño de campo de trabajo diferente. Es posible que si hubiéramos utilizado otras técnicas más discriminativas (como la microscopia de fuerza atómica - *AFM*) para medir la rugosidad, se hubiesen obtenido diferencias estadísticamente significativas entre la rugosidad de la dentina superficial y profunda que podrían justificar las diferencias en los valores del ángulo de contacto en la dentina profunda. Sin embargo, en este trabajo se ha utilizado el perfilometro porque es una herramienta estándar válida en muchos protocolos de investigación (Toledano y cols., 1999a; Rosales y cols., 2001; Al-Omari y cols., 2001; Ayad y cols., 2009).

La rugosidad se relaciona con el ángulo de contacto mediante la ecuación de Wenzel (1936), como ya se ha indicado. Así, el aumento de la rugosidad que tiene lugar tras el grabado ácido de la dentina podría contribuir a disminuir los valores de ángulo de contacto. Sin embargo, la ecuación de Wenzel es una ecuación teórica, pensada para una superficie química y morfológicamente homogénea. Por su parte, la dentina es una superficie totalmente heterogénea y cambiante, por lo que su aplicación puede que no siempre sea oportuna, puesto que no deja de ser un algoritmo aplicado a unas superficies biológicas, y los datos obtenidos deben ser estudiados con cautela.

El incremento de la rugosidad tras el grabado ácido puede tener importancia en la adhesión, pues unos mayores valores de rugosidad van ligados a un aumento del área de contacto (Finger y cols., 1989; Oh y cols., 2002; Pazinatto y cols., 2006)

lo que podría significar una mejora en la adhesión establecida entre esa dentina más rugosa y un sistema adhesivo.

## RESISTENCIA AL CIZALLAMIENTO

En el presente trabajo de investigación también se hicieron pruebas de adhesión de un sistema adhesivo basado en acetona (*P&B NT*).

Las pruebas de adhesión que más se han utilizado en la literatura consultada son de dos tipos: resistencia al cizallamiento y resistencia a la tracción. El ensayo de resistencia al cizallamiento consiste en la aplicación de fuerzas paralelas a la superficie de unión. La resistencia al cizallamiento simula más fielmente las tensiones que una restauración adhesiva sufrirá durante su uso. El ensayo de resistencia a la tracción consiste en la aplicación de fuerzas perpendiculares a la superficie de unión que intentan separar los sustratos adheridos.

Las diferencias entre un ensayo de resistencia al cizallamiento y un ensayo de resistencia a la tracción no son muy claras (Fowler y cols., 1992), incluso hay estudios en que el ensayo de resistencia al cizallamiento obtuvo valores más altos de adhesión que el ensayo de resistencia a la tracción (Kitasako y cols., 1995). Dentro de los ensayos de resistencia a la tracción existe otro método llamado de resistencia a la microtracción (*Microtensile Bond Strength - MTBS*). En este método se producen valores muy superiores a la resistencia al cizallamiento debido a una distribución muy uniforme de las fuerzas de tracción (Sano y cols., 1994), pero se trata de una técnica muy laboriosa.

Para evaluar la fuerza de unión (*SBS*), en nuestro estudio, se usó el método de resistencia al cizallamiento en un solo plano, con las mordazas de Watanabe (*SPSTA*), que consigue una distribución homogénea de las fuerzas en la superficie de adhesión gracias al diseño del dispositivo que asegura la unión del material y no permite puntos o líneas de contacto durante la aplicación de la carga (Watanabe y cols., 1988; Watanabe y cols., 1996; Watanabe y cols., 2000). Como se ha referido anteriormente, este método es el que mejor simula las fuerzas a que la restauración va a ser sujeta en la cavidad oral.

Según un estudio exhaustivo realizado por Watanabe y cols. (2000) sobre los efectos de las diferentes variables que se pueden utilizar en los ensayos de resistencia adhesiva para valorar la fuerza de adhesión, los parámetros más indicados para este tipo de ensayos fueron los manejados y controlados en el presente trabajo de investigación: área de superficie de adhesión, no variación entre laboratorios, experiencia del operador, velocidad de separación de cruceta y grado de hidratación.

Además, el sistema *SPSTA* se encuentra ya incluido como apéndice en las normas ISO/TR 11405 en "*Test Methods for the Adhesion of Restorative Materials to Tooth Structure*" (Watanabe y cols., 2000).

Nuestro estudio indica que no existen diferencias entre los valores obtenidos de fuerza de unión en dentina superficial y profunda, aunque esté bien documentado que es difícil obtener fuerzas de adhesión elevadas en dentina profunda con determinados sistemas adhesivos (Hebling y cols., 2007; Uceda-Gómez y cols., 2003; Yoshikawa y cols., 1999; Yoshiyama y cols., 1995; Tagami y cols., 1990). Algunos autores relacionan la baja fuerza de adhesión en dentina profunda con el aumento de su permeabilidad o con la disminución en el área de dentina intertubular disponible para la adhesión (Tagami y cols., 1990). Las diferencias regionales en la humedad dentinaria también han sido estudiadas, porque la humedad aumenta con la cercanía de la cámara pulpar (Suzuki y cols., 1988). Sin embargo, Toledano y cols. (2003), obtuvieron fuerzas de adhesión más elevadas en sistemas adhesivos basados en alcohol y en acetona cuando eran aplicados en dentina profunda, concluyendo que la fuerza de adhesión a dentina es dependiente no solo de la profundidad de la dentina sino también del sistema adhesivo utilizado.

Existen diferencias morfológicas (Tao y cols., 1990) entre la estructura de la dentina superficial y de la dentina profunda que pueden influir en el comportamiento clínico y mecánico de este tejido. El número relativo de túbulos dentinarios expuestos, el área de dentina peritubular y el área ocupada por dentina intertubular varían dramáticamente dependiendo de la profundidad de la dentina que estamos

observando (Pashley, 1989; Pashley y cols., 1997). Gwinnett (1993) afirmó que la fuerza adhesiva total de las resinas a la dentina es la suma de las fuerzas adhesivas promovida por la formación de los *tags* de resina individualmente, la capa híbrida y la adhesión de superficie. Teniendo en cuenta estos tres elementos, la adhesión a la superficie sería el factor más importante de la fuerza adhesiva total. En la dentina profunda, hay menos dentina intertubular y, por tanto, la superficie para la adhesión es menor que en la dentina superficial (Gwinnett, 1993).

No se encontraron diferencias significativas en la fuerza de unión cuando se comparó la dentina superficial grabada con la dentina superficial grabada y tratada con hipoclorito. Según el análisis estadístico, la remoción del colágeno no tuvo ningún papel en la fuerza de unión obtenida en este sustrato. Según Fuentes y cols. (2004), la remoción completa de las proteínas de la dentina dejaría sin soporte los pequeños cristales de hidroxiapatita, con lo cual, el tratamiento de la dentina con soluciones de NaOCl podría remover, no solo, la matriz de colágeno sino también algo de su contenido mineral, lo que debilitaría la adhesión química a la dentina. Estudios previos también han demostrado que la humectabilidad de la dentina superficial no aumenta cuando la superficie grabada es tratada con el hipoclorito de sodio (Toledano y cols., 1999a). Otros autores (Uno y Finger, 1995; Kanca y col., 1998) no obtuvieron diferencias en la fuerza de adhesión entre dentina superficial y dentina periférica grabada y grabada y tratada con hipoclorito. Uno y Finger (1995) afirman que la remoción de la capa de colágeno de la dentina incluso mejora la humectabilidad de la superficie. Ese cambio en la dentina la hace similar al esmalte, porque sólo quedan cantidades insignificantes de proteína en la superficie. Sin embargo, ellos obtuvieron que la presencia de una capa híbrida (dentina no tratada con NaOCl) mejora el sellado marginal. Esto sería debido a la absorción de las tensiones de contracción de la resina por la capa híbrida. Kanca y cols. (1998) afirman que las fuerzas de adhesión que obtuvieron en su estudio fueron superiores cuando la dentina fue grabada (dentina grabada vs dentina no grabada), independientemente de haber sido tratada con hipoclorito sódico o no. Ellos concluyen que cuando se utiliza un adhesivo basado en acetona, el estado de hidratación de la dentina es uno de los factores más importantes en el éxito de la adhesión. Por eso en el presente estudio se ha utilizado la técnica de adhesión

húmeda, usando papel secante húmedo para secar la dentina sin deshidratarla y obteniendo el mismo grado de hidratación en todas las mediciones del trabajo.

Cuando la dentina profunda se grabó y trató con NaOCl, la fuerza de unión no se diferenció de los valores de la dentina grabada. Kanca y Sandrik (1998) demostraron que la disolución de la capa de colágeno antes de la aplicación del sistema adhesivo puede producir fuerzas de adhesión muy buenas. Sin embargo, nuestros resultados demuestran que el tratamiento con hipoclorito no influye de forma significativa. A pesar de que el NaOCl es un agente proteolítico no específico bien conocido capaz de remover material orgánico de la superficie dentinaria descalcificada (Perdigão y cols., 1999; Perdigão y cols., 2000) las observaciones de Microscopia Electrónica de Transmisión (MET) realizadas por Perdigão y cols. (2000) y Osorio y cols. (2002) demuestran que la remoción del colágeno de la dentina descalcificada no es siempre completa. Perdigão y cols. (2000) observaron una disminución de las fuerzas adhesivas del *P&B NT* y de un adhesivo basado en alcohol y agua (*Single Bond*) después del tratamiento de la dentina con un gel de hipoclorito sódico al 10%. Sin embargo, Perdigão y cols. (2000) han utilizado una concentración de hipoclorito y un protocolo diferente del utilizado en este estudio. Aquí se utilizó una solución acuosa de NaOCl al 5% durante 2 minutos con agitación constante. Para algunos sistemas adhesivos, como el *P&B 2.1*, se observó que la remoción de las fibras de colágeno con una solución de hipoclorito de sodio estándar de laboratorio aumentaba las fuerzas de adhesión (Inai y cols., 1998; Toledano y cols. 2002). Este aumento de las fuerzas de adhesión puede ser resultado de una interacción más fuerte entre esta solución de NaOCl más concentrada (13% NaOCl) y la dentina (Perdigão y cols., 2000; Inai y cols., 1998). Otros investigadores observaron que cuanto mayor es la concentración del NaOCl, mayores son las fuerzas de adhesión hasta una concentración del 10% con una aplicación de 60 segundos (Tanaka y cols., 1993).

Los factores más importantes que determinan la fuerza de adhesión, según Gwinnett y cols. (1996), son la porosidad dentinaria y la fuerza intrínseca de la resina. Después de la aplicación del NaOCl, la porosidad del sustrato adhesivo es mayor en la dentina profunda que en la dentina superficial (Toledano y cols., 1999a). Como ya se ha indicado, algunos autores (Perdigão y cols., 1999;

Wakabayashi y cols., 1994) también han publicado que después de tratar la dentina con NaOCl durante 2 minutos, los túbulos dentinarios existentes en la dentina intertubular y sus ramificaciones laterales quedan más anchos (como puede ser observado en las figuras 28 vs 29). Coli y cols (1999) explicaron que un aumento de la fuerza de unión) en las superficies dentinarias cervicales tratadas con hipoclorito sódico puede ser debido al aumento de la superficie de contacto, originado por un incremento de la rugosidad de la superficie dentinaria. Las fuerzas de adhesión podrían aumentar con la remoción del colágeno, porque la rugosidad de la superficie aumenta (Wakabayashi y cols., 1994; Toledano y cols., 1999a; Perdigão y cols., 1999; Coli y cols., 1999; Phrukkanon y cols., 2000), los túbulos son ensanchados (Inaba y cols., 1995; Perdigão y cols., 1999), la penetración de la resina adhesiva en la dentina tratada es mejor (Inaba y cols., 1995; Inai y cols., 1998; Phrukkanon y cols., 2000; Toledano y cols., 2000), los cristales de hidroxiapatita se proyectan hacia dentro de la matriz de colágeno y existe la posibilidad de una interacción química en la interfase resina-dentina (Phrukkanon y cols., 2000). Phrukkanon *et al* (2000) obtuvieron valores más elevados de fuerza de unión (15,9 MPa – control; 20,4 MPa – 1 minuto NaOCl) que el presente estudio, pero ellos usaron un procedimiento de test diferente, particularmente un área de adhesión más pequeña (la tensión es inversamente proporcional al área estudiada) y además no termociclaron los especímenes. Como consecuencia de las frecuentes variaciones encontradas en la metodología empleada, los estudios que determinan la fuerza de adhesión son importantes, principalmente, por su valor relativo (Cardoso y cols., 1998) y no siempre son posibles las comparaciones numéricas (Söderholm, 1991).

Sin embargo, algunos estudios publicados han demostrado que la fuerza de unión a la dentina no está directamente relacionada con la formación de la capa híbrida (Gwinnett, 1994b; Inai y cols., 1998; Coli y cols., 1999; Yamazaki y cols., 2008), pero esto no está consensuado. Para algunos sistemas adhesivos, la remoción de las fibras de colágeno con una solución estándar de NaOCl de laboratorio supuso, en algunos estudios, un aumento de las fuerzas de adhesión (Wakabayashi y cols., 1994; Inai y cols., 1998; Phrukkanon y cols., 2000), para otros sistemas adhesivos se publicó que la ausencia o no de la capa híbrida no afecta a la adhesión resina-dentina (Gwinnett, 1994b; Coli y cols., 1999), o que



puede disminuir la fuerza de adhesión (Yamazaki y cols., 2008; Perdigão y cols., 2000). Los resultados van a variar dependiendo de (1) la metodología usada en los tests (Cardoso y cols., 1998), (2) la composición del sistema adhesivo (que determina el modo de aplicación y interacciones químicas con la dentina) (Perdigão y cols., 2000; Phrukkanon y cols., 2000) y (3) las diferentes soluciones de NaOCl o incluso el modo de aplicación (Perdigão y cols., 2000). Así, la contribución del colágeno en la adhesión a la dentina también debe ser considerada independientemente para cada sistema adhesivo, sin embargo, la capa híbrida es una base importante de la adhesión a dentina (Moodley y col. 2002; Yamazaki y cols., 2008).

Los sistemas adhesivos que contienen acetona parecen penetrar bien en la superficie de dentina desmineralizada porosa profunda (Toledano y cols., 2000) por su capacidad de desplazamiento del agua (Tay y cols., 1996c). La acetona ha sido considerada el mejor solvente para el transporte de la resina hacia la dentina húmeda (Jacobsen y col., 1995; Kanca, 1992; Gwinnett, 1992), lo que no está consensuado en la comunidad científica. Además, Prime & Bond NT contiene un éster de ácido fosfórico conocido como PENTA (dipentaeritrol penta acrilato monofosfato). Es posible que los radicales fosfato de las moléculas del PENTA puedan tener alguna interacción con los iones calcio dejados en la superficie de la dentina después de la remoción del colágeno (Osorio y cols., 2008; Toledano y cols., 2003; Inai y cols., 1998), lo que puede originar una infiltración uniforme de la resina en la dentina (Gwinnett y cols., 1996), como puede apreciarse en la figura 29 de MEB del presente trabajo. En este caso, el PENTA puede ser el componente que promueva la humectabilidad y la infiltración de este sistema adhesivo. El problema es que los adhesivos basados en acetona son más sensibles a la técnica y al grado de hidratación de la dentina (Nunes y cols., 2001; Manso y cols., 2008). Nunes y cols. (2001) refieren que en determinados estudios, como el suyo, es muy difícil estandarizar el nivel de humedad dejado en la superficie dentinaria. Además, en un estudio reciente, los sistemas adhesivos que contienen acetona han obtenido fuerzas de adhesión inferiores a los que contienen alcohol y agua, y se han mostrado mucho más sensibles al grado de humedad de la superficie dentinaria (Manso y cols., 2008).

Como ya referido antes, sistemas adhesivos que incorporan relleno en la resina son viscosos y no forman una película fina fácilmente. En la figura 29a se puede observar que la capa de adhesivo es muy gruesa. La obtención de un espesor mínimo de adhesivo entre la dentina y la resina compuesta es muy importante (Walshaw y cols., 2003). Películas de resina inferiores a 23  $\mu\text{m}$  están sujetas a inhibición por el oxígeno (Rueggberg y Margeson, 1990) y no polimerizarán completamente. Los adhesivos con relleno forman películas gruesas entre 60 y 250  $\mu\text{m}$  que fallan cohesivamente, lo que tiene la ventaja de dejar la dentina sellada, a pesar de su resistencia a la fractura moderada (Walshaw y cols., 2003). El sistema adhesivo *Prime & Bond NT* (Ceballos y cols., 2003) está relleno de nanopartículas que pueden ayudar al establecimiento de una capa de adhesivo más gruesa y uniforme que estabiliza la capa híbrida (Inoue y cols., 2000), aunque ese efecto sea todavía controvertido (Braga y cols., 2001; Nunes y cols., 2001). Nunes y cols. (2001) obtuvieron datos que refuerzan la hipótesis de que el relleno puede reducir la penetración del adhesivo en la dentina grabada, produciendo una capa híbrida defectuosa.

En aquellos casos en los que la capa híbrida casi no existe (figuras 27 y 29) y sin embargo los valores de fuerza de unión no varían, éstos van a depender más de la uniformidad de la capa híbrida que de su grosor (Prati y cols., 1999; Tay y col., 2001; Albaladejo y cols., 2009 (epub ahead of print))

Según Suzuki y col. (1998) cuando las resinas compuestas son usadas en la dentina profunda aparecen fracasos de la adhesión a dentina y sensibilidad dentinaria. En dentina profunda, la remoción total o parcial de la capa de colágeno con NaOCl podría facilitar la penetración del sistema adhesivo y evitar este efecto en cavidades a ese nivel, como se observa en la figura 29, donde la superficie dentinaria grabada fue tratada con NaOCl y después se aplicó el *P&B NT*. Es posible que la adhesión sea mejor entre los adhesivos dentinarios y las superficies dentinarias sin colágeno usando nuevos y mejorados materiales y técnicas.

Si la adhesión se consigue entre los minerales dentinarios y los sistemas adhesivos, la durabilidad de la capa híbrida puede incluso mejorar (Inai y cols., 1998). En el presente estudio, los tests se hicieron a las 24 horas de terminar la

preparación de los especímenes. Este intervalo de tiempo es adecuado para evaluar la capacidad adhesiva de un material, pero no es suficiente para aportar ninguna otra información en lo que respecta a los cambios en la fuerza adhesiva a lo largo del tiempo para ambos procedimientos. Por tanto, son necesarios más trabajos de investigación para aclarar este tema.

Así, se puede constatar que el comportamiento de la interfase adhesiva es difícil de prever y sabemos que dicha interfase no es uniforme, tiene irregularidades en la superficie y tiene presencia de burbujas. Además, mínimas variaciones en los procedimientos de aplicación de un sistema adhesivo pueden influir en el servicio clínico de la interfase adhesiva.

## VI. CONCLUSIONES



## VI. CONCLUSIONES

De acuerdo con la metodología utilizada y los resultados obtenidos en este trabajo se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1. La técnica *ADSA* es una técnica válida para el análisis de fenómenos interfaciales como la tensión superficial y el ángulo de contacto en la adhesión a dentina.
2. El grabado ácido produce cambios que disminuyen el ángulo de contacto tanto en dentina superficial como en dentina profunda originando un aumento de la humectabilidad de la dentina debido al incremento de la rugosidad de superficie y a la apertura y ensanchamiento de los túbulos dentinarios.
3. El grabado ácido produce cambios que aumentan la rugosidad de la dentina, pero sólo con significado estadístico para la dentina profunda.
4. El tratamiento con hipoclorito sódico de la dentina grabada disminuyó los valores de ángulo de contacto con el agua y con el sistema adhesivo en la dentina profunda, puesto que, probablemente debido a las diferencias morfológicas, la dentina profunda es más humectable que la dentina superficial.
5. El aumento en el ángulo de contacto en la dentina profunda grabada y tratada con hipoclorito sódico puede ser resultado de la presencia de nanorrelleno en el sistema adhesivo *P&B NT* que, suponiendo un aumento de su viscosidad, impediría su penetración en el sustrato.
6. La profundidad del sustrato no influyó en los resultados de resistencia adhesiva entre dentina y resina compuesta adherida con el adhesivo *Prime & Bond NT*, evaluados mediante el test de resistencia al cizallamiento.

7. El tratamiento de la superficie de la dentina con NaOCl no mejora las fuerzas de adhesión obtenidas (*SBS*) con el sistema adhesivo *P&B NT*.
8. El modo más frecuente de fractura fue el mixto para todos los grupos.
9. En las imágenes de MEB de dentina grabada no se observan diferencias entre la dentina superficial y profunda.
10. Cuando se aplica NaOCl en la superficie de dentina grabada previo al sistema adhesivo *P&B NT*, independientemente de su profundidad, aparecen diferencias morfológicas puesto que prácticamente desaparece la capa híbrida y los *tags* se presentan con menor número de prolongaciones secundarias.

## VII. BIBLIOGRAFÍA





## VII. BIBLIOGRAFÍA

Abbott P, Heijkoop S, Cardaci S, Hume W. A SEM study of the effects of different irrigation sequences and ultrasonics. *Int Endod J* 1991; 24: 308-316.

Agee K, Zhang Y, Pashley DH. Effects of acids and additives on the susceptibility of human dentin to denaturation. *J Oral Rehabil* 2000; 27: 136-141.

Aguilar-Mendoza JA, Rosales-Leal JI, Rodríguez-Valverde MA, Cabrerizo-Vílchez MA. Effect of acid etching on dentin wettability and roughness: Self-Etching Primers versus Phosphoric Acid. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2008a; 84B: 277-285.

Aguilar-Mendoza JA, Rosales-Leal JI, Rodríguez-Valverde MA, González-López S, Cabrerizo-Vílchez MA. Wettability and bonding of self-etching dental adhesives. Influence of the smear layer. *Dent Mater* 2008b; 24: 994-1000.

Akinmade AO, Nicholson JW. Glass-ionomer cements as adhesives. Part I. Fundamental aspects and their clinical relevance. *J Mater Sci Mater Med* 1993; 4: 95-101.

Albaladejo A, Osorio R, Toledano M, Ferrari M. Hybrid layers of etch-and-rinse versus self-etching adhesive systems. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009 (Epub ahead of print).

Al-Omari WM, Mitchell CA, Cunningham JL. Surface roughness and wettability of enamel and dentin surfaces prepared with different dental burs. *J Oral Rehabil* 2001; 28: 645-650.

Arends J, Stokroos I, Jongebloed WG, Ruben J. The diameter of dentinal tubules in human coronal dentine after demineralization and air drying. *Caries Res* 1995; 29: 118-121.

Asmussen E, Attal JP, Degrange M. Adherence of resin-based luting agents assessed by the energy of fracture. *Acta Odontol Scand.* 1993; 51: 235-40.

Attal JP, Asmussen E, Degrange M. Effects of surface treatment on the free surface energy of dentin. *Dent Mater.* 1994; 10: 259-264.

Ayad MF, Johnston WM, Rosenstiel S. Influence of dental rotary instruments on the roughness and wettability of human dentin surfaces. *J Prosthet Dent* 2009; 102: 81-88.

Barbosa K, Safavi KE, Spangberg SW. Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentin. *Int Endodont J* 1994; 27: 309-312.

Bhaskar SN. Histología y embriología bucal de Orban. 1ª edición. México: Prado, 1993.

Bowen RL. Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues. XXII. The effects of a cleanser, mordant, and polySAC on adhesion between a composite resin and dentin. *J Dent Res* 1980; 59: 809-14.

Bowen RL, Eick JD, Henderson DA, Anderson DW. Smear layer: removal and bonding considerations. *Oper Dent* 1984; 3 (suppl.): 30-34.

Brackett WW, Tay FR, Looney SW, Ito S, Haisch LD, Pashley DH. Microtensile dentin and enamel bond strengths of recent self-etching resins. *Oper Dent* 2008; 33: 89-95.

Braga RR, Cesar PF, Gonzaga CC. Tensile bond strength of filled and unfilled adhesives to dentin. *Am J Dent* 2001; 13: 73-76.

Brännström M, Linden L, Johnson G. Movement of dentinal and pulpal fluid caused by clinical procedures. *J Dent Res* 1968; 47: 679-682.

Burke FJT, Mc Caughey AD. The four generations of dentin bonding. *Am J Dent* 1995; 8: 88-92.

Burrow MF, Satoh M, Tagami J. Dentin bond durability after three years using a dentin bonding agent with and without priming. *Dent Mater* 1996; 12: 302-307.

Cagidiaco MC, Ferrari M, Vichi A, Davidson CL. Mapping of tubule and intertubule surface areas available for bonding in Class V and Class II preparations. *J Dent* 1997; 25: 379-389.

Çalt S, Server A. Smear layer removal by EGTA. *J Endod* 2000; 26: 459-461.

Cardoso PEC, Braga RR, Carrilho MRO. Evaluation of micro-tensile, shear and tensile tests determining the bond strength of three adhesive systems. *Dent Mater* 1998; 14: 394-398.

Carvalho RM, Tay F, Sano H, Yoshiyama M, Pashley DH. Long-term mechanical properties of EDTA-demineralized dentin matrix. *J Adhes Dent* 2000; 2: 193-199.

Ceballos L, Camejo DG, Victoria Fuentes M, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, Pashley DH. Microtensile bond strength of total-etch and self-etching adhesives to caries-affected dentine. *J Dent* 2003; 31: 469-477.

Chapell RP, Cobb CM, Spencer P, Eick JD. Dentinal tubule anastomosis: a potential factor in adhesive bonding? *J Prosthet Dent* 1994; 72: 183-188.

Cheng P, Li D, Boruvka L, Rotenberg Y, Neumann AW. Automation of axisymmetric drop shape for measurements of interfacial tensions and contact angles. *Coll Surf* 1990; 43: 151-167.

Cheng P, Neumann AW. Computational evaluation of axisymmetric drop shape analysis-profile (ADSA-P). *Coll Surf* 1992; 62: 297-305.

Ciucchi B, Bouillaguet S, Holtz J, Pashley D. Dentinal fluid dynamics in human teeth, *in vivo*. *J Endod* 1995; 21: 191-194.

Cohen S. Pathways of the pulp. Editorial Mosby, 8<sup>th</sup> edition, 2002.

Coli P, Alaeddin S, Wennerberg A, Karlsson S. *In vitro* dentin pre-treatment: Surface roughness and adhesive shear bond strength. *Eur J Oral Sci* 1999; 107: 400-413.

Combe, EC. Materiales dentales. Barcelona; Ed. Labor, 1990.

*CRA Newsletter* 2002; 26(6): 1-3.

Crim GA, Garcia-Godoy F. Microleakage: Effect of storage and cycling duration. *J Prosthet Dent* 1987; 57: 574-576.

Czonstkowsky M, Wilson E, Holstein F. The smear layer in endodontics. *Dent Clin North Am* 1990; 1: 11-21.

Darvel BW. Materials Science for Dentistry. Hong Kong: 212-232. *In*: Pazinato F, Lopes F, Marquezini J, Castro F, Atta M. Effect of surface treatments on the spreading velocity of simplified adhesive systems. *J Appl Oral Sci* 2006; 14: 393-398.

Davis WL. Histología y embriología bucal. México; Interamericana McGraw-Hill, 1986.

Demaria ME, Watanabe LG, Marshall GW, Jendresen MD, Marshall SJ. Wetting of dentin as a function of intra-tooth location. *J Dent Res* 1995; 74 [Abstract 173].

De Goes MF, Pachane GC, Garcia-Godoy F. Resin bond strength with different methods to remove excess water from the dentin. *Am J Dent* 1997; 10: 298-301.

Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorensen SE. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. *J Dent Res* 1970; 49: 1359-68.

Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH, Robinson SJ. Current concepts on adhesion to dentin. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997; 8: 306-335.

Eliades G. Clinical relevance of the formulation and testing of dentine bonding systems. *J Dent* 1994; 22: 73-81.

Eliades G, Vougiouklakis G, Palaghias G. Heterogeneous distribution of single-bottle adhesive monomers in the resin–dentin interdiffusion zone. *Dent Mater* 2001; 17: 277-283.

Ericksson RL. Surface interactions of dentin adhesive materials. *Oper Dent* 1992; (Suppl 5): 81-94.

Fawzy AS, Amer MA, El-Askary FS. Sodium hypochlorite as dentin pretreatment for etch and rinse single bottle and two step self-etching adhesives: Atomic Force Microscopy and Tensile Bond Strength evaluation. *J Adhes Dent* 2008; 10: 135-144.

Finger WJ, Manabe A, Alker B. Dentin surface roughness vs. bond strength of dentin adhesives. *Dent Mater* 1989; 5: 319-323.

Finger WJ, Fritz U. Laboratory evaluation of one-component enamel/dentin bonding agents. *Am J Dent* 1996; 9: 206-210.

Fowler CS, Swartz ML, Moore BK, Rhodes BF. Influence of selected variables on adhesion testing. *Dent Mater* 1992; 8: 265-269.

Fritz UB, Finger WJ. Bonding efficiency of single-bottle enamel/dentin adhesives. *Am J Dent* 1999; 12: 277-282.

Fuentes V, Toledano M, Osorio R, Carvalho R. Microhardness of superficial and deep sound human dentin. *J Biomed Mater Res* 2003; 66A: 850-853.

Fuentes V, Ceballos L, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, *et al.* Tensile strength and microhardness of treated human dentin. *Dent Mater* 2004; 20: 522-529.

Gallo JR, Comeaux R, Haines B, Xu X, Burgess JO. Shear bond strength of four filled dentin bonding systems. *Oper Dent* 2001; 26: 44-447.

Garberoglio R, Brannstorm M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* 1976; 21: 355-362.

Gaston BA, Pashley DH, West LA, Liewehr FR. Evaluation of regional bond strengths of resin cement to endodontic surfaces. *J Endod* 1999; 25: 284-289 (Abstract # OR7).

Gaston BA, Pashley DH, West LA, Liewehr FR. Evaluation of regional bond strengths of resin cement to endodontic surfaces. *J Endod* 2001; 27: 321-324.

Glavchev I, Nikolov RN, Valchev P. Determination of evaporation rates of mixed solvents with the formation of thin film for membranes. *Polymer Testing* 2003; 22: 529-532.

Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. *Histología y Embriología Bucodental*. Editorial Médica Panamericana. Madrid 2001.

Gordan VV, Vargas MA, Cobb DS, Denehy GE. Evaluation of acidic primers in microleakage of class V composite resin restorations. *Oper Dent* 1998; 23: 244-249.

Gwinnett AJ. Moist *versus* dry dentin: its effects on shear bond strength. *Am J Dent* 1992; 5: 127-129

Gwinnett AJ. Quantitative contribution of resin infiltration/hybridization to dentin bonding. *Am J Dent* 1993; 6: 7-9.

Gwinnett AJ. Dentin bond strength after air drying and rewetting. *Am J Dent* 1994a; 7: 144-148.

Gwinnett AJ. Altered tissue contribution to interfacial bond strength with acid conditioned dentin. *Am J Dent* 1994b; 7: 243-246.

Gwinnett AJ, Tay FR, Pang KM, Wei SHY. Quantitative contribution of the collagen network in dentin hybridization. *Am J Dent* 1996; 9: 140-144.

Habelitz S, Balooch M, Marshall SJ, Balooch G, Marshall GW Jr. *In situ* atomic force microscopy of partially demineralized human dentin collagen fibrils. *J Struct Biol* 2002; 138: 227-236.

Haller B. Recent developments in dentin bonding. *Am J Dent* 2000; 13: 44-50.

Hansen EK, Asmussen E. Improved efficacy of dentin-bonding agents. *Eur J Oral Sci* 1997; 105(5 Pt 1): 434-439.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. *In vivo* degradation of resin–dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 2000; 79: 1385-1391.

Hebling J, Castro F, Costa C. Adhesive performance of dentin bonding agents applied *In Vivo* and *In Vitro*. Effect of intrapulpal pressure and dentin depth. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2007; 83B: 295-303.

Holgado Terriza JA. Análisis digital de interfaces curvas. Memoria de licenciatura. Granada: Universidad de Granada, 1996.

Inaba D, Duschner H, Jongebloed W, Odellius H, Takagi O, *et al*. The effects of a sodium hypochlorite treatment on demineralised root dentin. *Eur J Oral Sci* 1995; 103: 368-374.



Inaba D, Ruben J, Takagi O, Arends F. Effect of sodium hypochlorite treatment on remineralization of human root dentin in vitro. *Caries Res* 1996; 30: 218-224.

Inai N, Kanemura N, Tagami J, Watanabe LG, Marshall SJ, *et al.* Adhesion between collagen depleted dentin and dentin adhesives. *Am J Dent* 1998; 11: 123-127.

Inoue S, Van Meerbeek B, Vargas M, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G. Adhesion mechanism of self-etching adhesives. *In:* Tagami J, Toledano M, Prati C, *et al.*, editors. *Advanced adhesive dentistry*. Cirimido, Italia; 2000; p.131-148.

ISO/Technical Specification 11405: 2003(E). Dental materials - Testing of adhesion to tooth structure.

Jacobsen T, Söderholm K-J. Some effects of water on dentin bonding. *Dent Mater* 1995; 11: 132-136.

Kanca J 3<sup>rd</sup>. Effect of resin primer solvents and surface wetness on resin composite bond strength to dentin. *Am J Dent* 1992; 5: 213-215.

Kanca JA. Wet bonding: Effect of drying time and distance. *Am J Dent* 1996; 9: 273-276.

Kanca J, Sandrik J. Bonding to dentin. Clues to the mechanism of adhesion. *Am J Dent* 1998; 11: 154-159.

Kinney JH, Balooch M, Haupt DL Jr, Marshall SJ, Marshall GW Jr. Mineral distribution and dimensional changes in human dentin during demineralization. *J Dent Res* 1995; 74: 1179-1184.

Kinney JH, Balooch M, Marshall SJ, Marshall GW, Weih TM. Atomic force microscope measurements of the hardness and elasticity of peritubular and intertubular human dentin. *J Biomech Eng* 1996; 118: 133-135.

Kitasako Y, Burrow MF, Nikaido T, Harada N, Inokoshi S, Yamada T, Takatsu T. Shear and tensile bond testing for resin cement evaluation. *Dent Mater* 1995; 11: 298-304.

Li D, Cheng P, Neumann AW. Contact angle measurement by axisymmetric drop shape analysis (ADSA). *Adv Colloid Interface Sci* 1992; 6: 39, 347-382.

Macchi, RL. Materiales dentales. Buenos Aires; Ed. Médica Panamericana, 2007.

Manso A, Marquezini L, Silva S, Pashley D, Tay R, Carvalho R. Stability of wet versus dry bonding with different solvent-based adhesives. *Dent Mater* 2008; 24: 476-482.

Marshall GW Jr, Balooch M, Tench RJ, Kinney JH, Marshall SJ. Atomic force microscopy of acid effects on dentin. *Dent Mater*. 1993; 9: 265-268.

Marshall GW, Balooch M, Kinney JH, Marshall SJ. Atomic force microscopy of conditioning agents on dentin. *J Biomed Mater Res* 1995; 29: 1381–1387.

Marshall GW, Inai N, Magidi IW, Balooch M, Kinney JH, Tagami J, Marshall SJ. Dentin demineralization: effects of dentin depth, pH and different acids. *Dent Mater* 1997; 13: 338-343.

Marshall GW, Yücel N, Balooch M, Kinney JH, Habelitz S, *et al.* Sodium hypochlorite alterations of dentin and dentin collagen. *Surf Sci* 2001; 491: 444-455.

Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, Toledano M, Pashley EL, Tay FR. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials* 2006; 27: 4470-4476.

McCabe, JF. Applied dental materials. Great Britain; Blackwell Publishing, 2006.

Melfi RC. Permar's oral embryology and microscopic anatomy. 9<sup>th</sup> Ed. Malvern, United States; Lea & Febiger, 1994.

Milosevic A. The influence of surface finish and *in-vitro* pellicle on contact-angle measurement and surface morphology of three commercially available composite restoratives. *J Oral Rehabil* 1992; 19: 85-97.

Mjör IA, Fejerskov O. Embriología e histología oral humana. Barcelona, España: Salvat. 1989.

Moodley D, Grobler SR. Dentine bonding agents - a review of adhesion to dentine. *SADJ* 2002; 57: 234-238.

Monticelli F, Osorio R, Pisani-Proença J, Toledano M. Resistance to degradation of resin-dentin bonds using a one-step HEMA-free adhesive. *J Dent* 2007; 35: 181-186.

Mountouris G, Silikas N, Eliades G. Effect of sodium hypochlorite treatment on the molecular composition and morphology of human coronal dentin. *J Adhes Dent* 2004; 6: 175-182.

Munksgaard EC, Asmussen E. Bond strength between dentin and restorative resins mediated by mixtures of HEMA and glutaraldehyde. *J Dent Res* 1984; 63: 1087-9.

Nakabayashi N, Kojima k, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res* 1982; 16: 265-273.

Nakabayashi N. Dentinal bonding mechanisms. *Quintessence Int* 1991; 22: 73-74.

Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthetic Dent* 1991 (Ed. Española); 1: 18-23.

Nakabayashi N, Takarada K. Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent Mater* 1992; 8: 125-130.

Nakabayashi N, Ashizawa M, Nakamura M. Identification of a resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created *in vivo*: Durable bonding to dentin. *Quintessence Int.* 1992; 23: 135-141.

Nakabayashi N, Saimi Y. Bonding to intact dentin. *J Dent Res* 1996; 75: 1706-1715.

Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissues (1998). En: Aguilar-Mendoza JA, Rosales-Leal JI, Rodríguez-Valverde MA, González-López S, Cabrerizo-Vílchez MA. Wettability and bonding of self-etching dental adhesives. Influence of the smear layer. *Dent Mater* 2008b; 24: 994-1000.

Nunes FM, Swift EJ, Perdigão J. Effects of adhesive composition on microtensile bond strength to human dentin. *Am J Dent* 2001; 14: 340-343.

Nunes TG, Ceballos L, Osorio R, Toledano M. Spatially resolved photopolymerization kinetics and oxygen inhibition in dental adhesives. *Biomaterials* 2005; 26: 1809-1817.

O'Brien, WJ. Dental materials and their selection. Chicago; Quintessence, 1997.

Oh WS, Shen C, Alegre B, Anusavice KJ. Wetting characteristic of ceramic to water and adhesive resin. *J Prosthet Dent* 2002; 88: 616-621.

Oliveira SSA, Pugach MK, Hilton JF, Watanabe LG, Marshall SJ, Marshall Jr GW. The influence of the dentin smear layer on adhesion: a self-etching primer vs. a total-etch system. *Dent Mater* 2003; 19: 758-767.

Osorio R, Toledano M, Cabrerizo-Vilchez MA, Rosales JI, Bravo M, Osorio E. Influence of enamel prophylaxis on wettability of three commercially available orthophosphoric acids. *J Biomed Mat Res (Appl Biomat)* 1996; 33: 269-274.

Osorio R, Toledano M. Materiales de uso más frecuente en Odontopediatría. Ediciones Buho, 2000. República Dominicana.

Osorio R, Ceballos L, Tay F, Cabrerizo-Vilchez MA, Toledano M. Effect of sodium hypochlorite on dentin bonding with a polyalkenoic acid-containing adhesive system. *J Biomed Mater Res* 2002; 60: 316-324.

Osorio R, Toledano M, De Leonardi G, Tay F. Microleakage and interfacial morphology of self-etching adhesives in class V resin composite restorations. *J Biomed Mat Res Part B: Appl Biomat* 2003; 66B: 399-409.

Osorio R, Toledano M, Osorio E, Aguilera FS, Tay FR. Effect of load cycling and *in vitro* degradation on resin-dentin bonds using a self-etching primer. *J Biomed Mat Res Part A: Appl Biomat* 2005; 72A: 399-408.

Osorio R, Pisani-Proença J, Erhardt MCG, Osorio E, Aguilera FS, Tay FR, Toledano M. Resistance of ten contemporary adhesives to resin-dentin bond degradation. *J Dent* 2008; 36: 163-169.

Outhwaite WC, Livingston MI, Pashley DH. Effect of changes in surface area, thickness, temperature and post-extraction time on human dentin permeability. *Arch Oral Biol* 1976; 21: 599-603.

Panighi M, G'Sell C. Influence of calcium concentration on the dentin wettability by an adhesive. *J Biomed Mater Res* 1992; 26: 1081-1089.

Pashley DH. Dentin-predentin complex and its permeability: physiologic overview. *J Dent Res* 1985; 64 (Spec No): 613-620.

Pashley DH. Dentin: a dynamic substrate: a review. *Scanning Microsc* 1989; 3: 161-176.

Pashley DH. Clinical correlations of dentin structure and function. *J Prosthet Dent* 1991; 66: 777-781.

Pashley GH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: A review. *Dent Mater* 1995; 11: 117-125.

Pashley DH, Carvalho RM. Dentin permeability and dentin adhesion. *J Dent* 1997; 25: 355-372.

Pashley DH, Zhang Y, Carvalho RM, Rueggeberg FA, Russel CM. H<sup>+</sup>-induced tension development in demineralized dentin matrix. *J Dent Res* 2000; 79; 1579-1538.

Pazinatto F, Lopes F, Marquezini J, Castro F, Atta M. Effect of surface treatments on the spreading velocity of simplified adhesive systems. *J Appl Oral Sci* 2006; 14: 393-398.

Perdigão J, Ramos J, Lambrechts P. *In vitro* interfacial relationship between human dentin and one-bottle dental adhesive. *Dent Mater* 1997; 13: 218-227.

Perdigão J; Thompson JY; Toledano M; Osorio R. An ultra-morphological characterization of collagen-depleted etched dentin. *Am J Dent* 1999; 12: 250-255.

Perdigão J, Lopes M, Geraldeli S, Lopes GC, García-Godoy F. Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. *Dent Mater* 2000; 16: 311-323.

Perdigão J, Ritter AV. Adesão aos tecidos dentários. En: *Odontologia Restauradora - Fundamentos e possibilidades*. Baratieri, LN. Ed. Livraria Santos Editora, São Paulo, 2001.

Perdigão J. New developments in dental adhesion. *Dent Clin North Am* 2007; 51: 333-357 (VIII).

Phrukkanon S, Burrow MF, Hartley PG, Tyas MJ. The influence of the modification of etched bovine dentin on bond strengths. *Dent Mater* 2000; 16: 255-265.

Prati C, Chersoni S, Pashley DH. Effect of removal of surface collagen fibrils on resin-dentin bonding. *Dent Mater* 1999; 15: 323-331.

Reisbick, MH. Materiales dentales en odontología clínica. México; Ed. El Manual Moderno, 1985.

Roberson T, Heymann H, Swift E. Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry. 5<sup>th</sup> Edition, St Louis, USA; Mosby 2006.

Rosales JI, Marshall GW, Marshall SJ, Watanabe LG, Toledano M, Cabrerizo MA, Osorio R. Acid-etching and hydration influence on dentin roughness and wettability. *J Dent Res* 1999; 78: 1554-1559.

Rosales JI, Osorio R, Holgado J, Cabrerizo M, Toledano M. Dentin wetting by four adhesive systems. *Dent Mater* 2001; 17: 526-532.

Rotenberg Y, Boruvka L, Neumann AW. Determination of surface tension and contact angle from the shapes of axisymmetric fluid interfaces. *J Colloid Interface Sci* 1983; 93: 169-183.

Rueggeberg FA, Margeson DH. The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system. *J Dent Res* 1990; 69: 1652-1658.

Sakae T, Michima H, Kozawa Y. Changes in bovine dentin mineral with sodium hypochlorite treatment. *J Dent Res* 1988; 67: 1229-1234.

Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, Pashley DH. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength - Evaluation of a microtensile bond test. *Dent Mater* 1994; 10: 236-240.

Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 1995a; 20: 18-25.

Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Russel CM, Pashley DH. Tensile properties of resin-infiltrated demineralized human dentin. *J Dent Res* 1995b; 74: 1093-1102.

Sano H, Yoshikawa T, Pereira PNR, Kanemura N, Morigami M, Tagami J, Pashley DH. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, *in vivo*. *J Dent Res* 1999; 78: 906-911.

Santini A, Plasschaert AJM, Mitchell S. Effect of composite resin placement techniques on the microleakage of self-etching dentin-bonding agents. *Am J Dent* 2001; 14: 132-136.

Schreiner RF, Chappell RP, Glaros AJ, Eick D. Microtensile testing of dentin adhesives. *Dent Mater* 1998; 14: 194-201.

Scott PG, Leaver AG. The degradation of human dentine collagen by trypsin. *Connect Tissue Res* 1974; 2: 299-307.

Sen B, Wesselink P, Turkun M. The smear layer: phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J* 1995; 28: 141-148.

Silikas N, Watts DC, England KER, Jandt KD. Surface fine structure of dentine investigated with tapping mode atomic force microscopy. *J Dent* 1999; 27: 137-144.

Skinner FK, Rotenberg Y, Neumann AW. Contact angle measurements from the contact diameter of sessile drops by means of a modified Axisymmetric Drop Shape Analysis. *J Colloid Interface Sci* 1989; 130: 25-34.

Skinner, EW. La ciencia de los materiales dentales. México; Ed. Panamericana, 1993.

Söderholm K-JM. Correlation of *in vivo* and *in vitro* performance of adhesive restorative materials: A report of the ASC MD156 Task Group on Test Methods for the Adhesion of Restorative Materials. *Dent Mater* 1991; 7: 74-83.



Soderholm KJ, Soares F, Argumosa M, Loveland C, Bimstein E, Guelmann M. Shear bond strength of one etch-and-rinse and five self-etching dental adhesives when used by six operators. *Acta Odontol Scand* 2008; 66: 243-249.

Spencer P, Swafford JR. Unprotected protein at the dentin–adhesive interface. *Quintessence Int* 1999; 30: 501-507.

Spencer P, Wang Y, Walker MP, Swafford JD. Molecular structure of acid-etched dentin smear layers - *In situ* study. *J Dent Res* 2001; 80: 1802-1807.

Suzuki T, Finger WJ. Dentin adhesives: site of dentin vs bonding of composite resins. *Dent Mater* 1988; 4: 379-383.

Tagami J, Tao L, Pashley DH. Correlation among dentin depth, permeability and bond strength of adhesive resins. *Dent Mater* 1990; 6: 45-50.

Tam LE, Khoshand S, Pilliar RM. Fracture resistance of dentin-composite interfaces using different adhesive resin layers. *J Dent* 2001; 29: 217-25.

Tanaka J, Nakai H. Application of root canal cleaning agents having dissolving abilities of collagen to the surface treatment for enhanced bonding of resin to dentin. *Dent Mater J* 1993; 12: 196-208.

Tani C, Manabe A, Itoh K, Hisamitsu T, Wakumoto S. Contact angle of dentin bonding agents on the dentin surface. *Dent Mater J* 1996; 15: 39-44.

Tao L, Pashley DH, McCuckin. *In vivo* bond strength: effect of depth and tooth type. *J Dent Res* 1990; 69: 285 (Abstr. # 1411).

Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SH. The overwet phenomenon: an optical, micromorphological study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. *Am J Dent* 1996a; 9: 43-48.

Tay FR, Gwinnett AJ, Pang KM, Wei SHY. Resin permeation into acid-conditioned, moist and dry dentin: A paradigm using water-free adhesive *primers*. *J Dent Res* 1996b; 75: 1034-1044.

Tay FR, Gwinnett JA, Wei SHY. Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free, acetone-based, single-bottle primer/adhesives. *Dent Mater* 1996c; 12: 236–244.

Tay FR, Carvalho R, Sano H, Pashley DH. Effect of smear layer on the bonding of self-etching primer to dentin. *J Adhes Dent* 2000; 2: 99-116.

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

Tay FR, Pashley DH. Have dentin adhesives become too hydrophilic? *J Can Dent Assoc* 2003; 69: 726-731.

Terkla LG, Brown AC, Hainisch AP, Mitchem JC. Testing sealing properties of restorative materials against moist dentin. *J Dent Res* 1987; 66: 1758-1764.

Titley K, Chernecky R, Chan A, Smith D. The composition and ultrastructure of resin tags in etched dentin. *Am J Dent* 1995; 8: 224-230.

Toledano M, Osorio R, Perdigão J, Rosales JI, Thompson JY, Cabrerizo-Vilchez MA. Effect of acid etching and collagen removal on dentin wettability and roughness. *J Biomed Mater Res* 1999a; 47: 198-203.

Toledano M, Osorio E, Osorio R, García-Godoy F. Microleakage of Class V resin-modified glass ionomer and compomer restorations. *J Prosthet Dent* 1999b; 81: 610-605.

Toledano M, Perdigão J, Osorio R, Osorio E. Effect of dentin deproteinization on microleakage of class V composite restorations. *Oper Dent* 2000; 25: 497-504.

Toledano M, Osorio R, Leonardo de G, Rosales-Leal JI, Ceballos L, Cabrerizo-Vilchez MA. Influence of self-etching primer on the resin adhesion to enamel and dentin. *Am J Dent* 2001; 14: 205-210.

Toledano M, Perdigão J, Osorio E, Osorio R. Influence of NaOCl deproteinization on shear bond strength in function of dentin depth. *Am J Dent* 2002; 15: 252-255.

Toledano M, Osorio R, Sánchez F, Osorio E. *Arte y Ciencia de los Materiales Dentales*. 2003a, Ediciones Avances Medico-Dentales, S.L. Madrid.

Toledano M, Osorio R, Ceballos L, Fuentes MV, Fernandes CAO, Tay FR, Carvalho RM. Microtensile bond strength of several different adhesive systems to different dentin depths. *Am J Dent* 2003b; 16: 292-298.

Toledano M, Osorio R, Osorio E, Prati C, Carvalho RM. Microhardness of acid-treated and resin infiltrated human dentin. *J Dent* 2005; 33: 349-354.

Toledano M, Osorio R, Albaladejo A, Aguilera FS, Osorio E. Differential effect of *in vitro* degradation on resin-dentin bonds produced by self-etch *versus* total-etch adhesives. *J Biomed Mat Res A* 2006; 77: 128-135.

Toledano M, Osorio R, Osorio E, Aguilera FS, Yamauti M, Pashley DH, Tay F. Durability of resin–dentin bonds: effects of direct/indirect exposure and storage media. *Dent Mater* 2007; 23: 885-892.

Torney D. The retentive ability of acid-etched dentin. *J Prosthet Dent* 1978; 39: 169-172.

Uceda-Gómez, Reis A, Carrilho M, Loguercio A, Rodrigues Filho L. Effect of sodium hypochlorite on the bond strength of an adhesive system to superficial and deep dentin. *J Appl Oral Sci* 2003; 11: 223-228.

Uno S, Finger W. Function of the hybrid zone as a stress-absorbing layer in resin dentin-bonding. *Quintessence Int* 1995; 26: 733-738.

Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J. Recent advances in the theory and mechanisms of adhesive resin bonding to dentin: a critical review. *J Biomed Mat Res Part B: Appl Biomater* 2009; 88B: 558-578.

Van Hassel HJ. Physiology of the human dental pulp. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971; 32: 126-134.

Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braen M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res* 1992; 71: 1530-1540.

Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, *et al.* Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *J Dent Res* 1993a; 72: 495-501.

Van Meebeek B, Willems G, Cellis JP, Roos JR, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Assessment by nano-indentation of the hardness and elasticity of the resin-dentin bonding area. *J Dent Res* 1993b; 72: 1434-1442.

Van Meerbeek B, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, Duke ES, *et al.* A TEM study of two water-based adhesive systems bonded to dry and wet dentin. *J Dent Res* 1998; 77: 50-59.

Vargas MA, Cobb DS, Armstrong SR. Resin–dentin shear bond strength and interfacial ultrastructure with and without a hybrid layer. *Oper Dent* 1997; 22: 159-166.

Wakabayashi Y, Kondou Y, Suzuki K, Yatani H, Yamashita A. Effect of dissolution of collagen on adhesion to dentin. *Int J Prosthodont* 1994; 7: 302-306.

Walshaw PR, Tam LE, McComb D. Bond failure at dentin-composite interfaces with “single-bottle” adhesives. *J Dent* 2003; 31: 117-125.

Watanabe LG, Lacy AM, Davis DR. Shear bond strength: single plane vs conventional lap shear. *J Dent Res* 1988; 67: 383 (Abstr. # 2159).

Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. *J Dent Res* 1994; 73: 1212-1220.

Watanabe LG, Marshall GW, Marshall SJ. Dentin shear strength: Effects of tubule orientation and intratooth location. *Dent Mater* 1996; 12: 109-115.

Watanabe LG, Marshall GW, Marshal SJ. Variables influence on shear bond strength testing to dentin. In: Tagami J, Toledano M, Prati C, eds. *Advanced Adhesive Dentistry: Proceedings Book of the 3rd International Kuraray Symposium (Granada)*. Tokyo: Kuraray Medical, 2000: 75-90.

Wege HA, Aguilar JA, Rodríguez-Valverde MA, Toledano M, Osorio R, Cabrerizo-Vílchez MA. Dynamic contact angle and spreading rate measurements for the characterization of the effect of dentin surface treatments. *J Colloid Interface Sci* 2003; 263: 162-169.

Weiss SJ, Slivka A, Wei M. Chlorination of taurine by human neutrophils. Evidence for hypochlorous acid generation. *J Clin Invest* 1982; 70: 598-607.

Wenzel RN. Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Indust Eng Chem* 1936; 28: 988-994.

Yamauti M, Hashimoto M, Sano H, Ohno H, Carvalho RM, Kaga M, Tagami J, Oguchi H, Kubota M. Degradation of resin-dentin bonds using NaOCl storage. *Dent Mater*. 2003; 19: 399-405.

Yamazaki P, Bedran-Russo A, Pereira P. Importance of the hybrid layer on the bond strength of restorations subjected to cyclic loading. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2008; 84B: 291-297.

Yip Y, McHugh AJ. Modeling simulation of nonsolvent vapour-induced phase separation. *Journal of Membrane Science* 2006; 271: 163-176.

Yiu CKY, Pashley EL, Hirashi N, King NM, Goracci C, Ferrari M, et al. Solvent and water retention in dental adhesive blends after evaporation. *Biomaterials* 2005; 26: 6863–6872.

Yoshikawa T, Sano H, Burrow MF, Tagami J, Pashley DH. Effects of dentin depth and cavity configuration on bond strength. *J Dent Res* 1999; 78: 898-905.

Yoshiyama M, Carvalho R, Sano H, Horner J, Brewer PD, et al. Interfacial morphology and strength of bonds made to superficial versus deep dentin. *Am J Dent* 1995; 8: 297-302.

Youngson CC, Grey NJA. An *in vitro* comparative analysis: scanning electron microscopy of dentin/restoration interfaces. *Dent Mater* 1992; 8: 252-258.

Yourtee DM, Smith RE, Russo KA, Burmaster S, Cannon JM, Eick JD, et al. The stability of methacrylate biomaterials when enzyme challenged: kinetic and systematic evaluations. *J Biomed Mater Res* 2001; 57: 522-531.

Yuan Y, Shimada Y, Ichinose S, Tagami J. Effect of dentin depth on hybridization quality using different bonding tactics *in vivo*. *J Dent* 2007; 35: 664-672.

Zhou XD, Zhang SC, Huebner W, Ownby PD. Effect of the solvent on the particle morphology of spray PMMA. *J Mater Sci* 2001; 36: 3759–3768.



