

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

**Efecto de la presión pulpar en la adhesión de
varios sistemas adhesivos y determinación de
adaptación marginal**



MARIA ANGELES MOLINO SERRANO
Granada 2016
Director: *Prof. Juan Ignacio Rosales- Leal*

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autora: María Ángeles Molino Serrano
ISBN: 978-84-9125-811-7
URI: <http://hdl.handle.net/10481/43612>

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Juan Ignacio Rosales, por su dedicación, enseñanza en la realización de este trabajo y por la confianza que depositó en mí.

A Gertrudis Gómez Villaescusa, por su ayuda en el laboratorio y sus buenos consejos.

A mis compañeros de trabajo por su ánimo.

A mis amigos, por el ánimo y el apoyo que me han dado.

A mi familia, por todo el cariño incondicional recibido.

A mi madre, por la fuerza para seguir adelante que me ha transmitido.

A las casas comerciales, por ceder sus productos.

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento

RESUMEN

La obtención de cavidades herméticamente selladas por la obturación es el objetivo principal de cualquier restauración dental para asegurar su éxito. El sellado y fuerza de unión puede verse influenciado por factores como la presión pulpar, el tipo de adhesivo, tipo de sustrato y el tamaño del *gap interfacial*.

Objetivos:

- 1) Evaluar la influencia de la presión pulpar en el sellado y la fuerza de unión de tres sistemas adhesivos.
- 2) Evaluar la capacidad de sellado tubular y la micropermeabilidad de la interfase de unión de varios sistemas adhesivos y un adhesivo experimental hidrófobo.
- 3) Determinación de un nuevo método de medición del *gap interfacial*.

Material y Método:

- 1) Para la evaluación del sellado se utilizó 80 cordales sanos. La muestra se dividió en 18 grupos de 5 cordales cada uno. Los adhesivos evaluados fueron: Prime&Bond Nt [P&B] (grabado total), Xeno V [XNO] (autograbador) y Fluoruo Bond Shake One [FLB] (autograbador). A esos cordales se le aplicó un dispositivo de presión pulpar (15 cm H₂O) y se les realizó cavidades clase V. Las condiciones de presión pulpar fueron: negativa (ausencia de presión); diferida (presión activada tras la aplicación del adhesivo); constante (presión activada durante la aplicación del adhesivo y mantenida tras su aplicación). Los periodos de tiempo fueron veinticuatro horas y un mes. Los cordales se dividieron en tres grupos en función de la condición de presión pulpar. Se subdividieron en tres grupos en función del adhesivo y a su vez en dos grupos más en función del tiempo. Tras los periodos de tiempo se evaluó la microfiltración y la permeabilidad dentinaria en la pared oclusal y gingival.

- 2) Para el análisis de la fuerza de unión se utilizó 72 cordales sanos, se dividió en los mismos 18 grupos de estudio (a diferencia de que cada grupo fue de 4 cordales) y se usó los mismos adhesivos que en el ensayo de microfiltración. Se cortó el tercio coronal y apical. Se pulieron a 400 grit se aplicó el adhesivo e incrementos de composite hasta 10 mm. Se limpió la cámara pulpar, se desinfectó y se obturó con composite fluido. Se cortaron las muestras en barras de 1mm² de grosor, se analizaron en una máquina Instron y fueron sometidas a un test de microtensión por compresión para analizar la resistencia mecánica.
- 3) Para la evaluación de la capacidad de sellado tubular y de la micropermeabilidad de la interfase de unión se llevó a cabo una técnica de presión pulpar. Se utilizó 9 cordales sanos divididos en 3 grupos de tres molares cada uno en función del adhesivo utilizado. Los adhesivos que se utilizaron fueron, un autograbador I Bond [IB], uno de grabado ácido previo Prime Bond XP [P&BXP] y otro de grabado ácido previo experimental con etanol. Se les cortó el tercio coronal, quedando en dentina superficial y el tercio apical. La dentina se pulió a 800 grit. Se amplió el diámetro de dos conductos con una fresa de turbina y se desinfectó con hipoclorito de sodio. Se introdujo una aguja por cada conducto, estableciendo un circuito de entrada y salida, y se selló con cemento de ionómero de vidrio. Se incluyeron en bloques de resina y se aplicó el adhesivo con Rodamina al 0'3% a cada grupo de estudio. Por último, a todos los grupos se le aplicó una capa de composite de Spectrum. A las 24 horas se conectó el sistema de presión pulpar. El agua se tiñó con fluoresceína al 0,05%. 24 horas más tarde se incluyó en metacrilato y se cortaron las muestras con 2 mm de anchura en el eje mayor del diente. Los cortes se pulieron a 4000 grit. Finalmente, las muestras se analizaron con microscopia láser confocal (CLSM).

4) El método para determinar *el gap interfacial* consistió en que a los molares se les hizo unos cortes mediodistal de unos 2mm de espesor y se seleccionaron para el estudio los dos cortes centrales. A cada corte se le realizó dos cavidades cilíndricas (de 1,5 mm de diámetro). De ese modo se obtuvo cuatro cavidades por cada molar. Dichas cavidades fueron obturadas con el composite en un único incremento. Después esos cortes se pulieron con papel de lija. El método se probó con 10 terceros molares sanos. Se dividieron en dos grupos de 5 dientes cada uno en función del adhesivo utilizado. Los adhesivos utilizados fueron uno de grabado ácido previo XP Bond [XPB] y otro autograbador Xeno V [XNO]. El material restaurador que se usó fue un composite híbrido Spectrum TPH (Dentsply). Se evaluó *el gap interfacial* en las muestras frescas sin procesar con el microscopio confocal de luz blanca (PI μ Sensofar-Tech, Nikon) midiendo la longitud (perímetro) y anchura del gap inicialmente y a las 24 horas. Los datos se expresaron en micras.

Resultados:

- 1) Con respecto a la microfiltración: las condiciones de presión pulpar solo afectan a la pared gingival; en la pared oclusal, el P&B y XNO obtiene un mejor sellado. El sellado de la pared gingival fue superior con XNO, seguido de FLB y P&B. En la pared gingival la filtración aumenta con P&B y FLB bajo presión diferida y mayor bajo presión constante. La menor filtración se observa con el XNO bajo ambas condiciones de presión pulpar. El tiempo de inmersión reduce el sellado de los tres adhesivos siendo más evidente bajo presión constante que con diferida.
- 2) Con respecto a la microtensión: En ausencia de presión pulpar (SP) y a las 24 horas es el adhesivo de grabado total P&B el que obtiene una mayor fuerza de unión frente a los autograbadores XNO y FLB. Siendo el FLB el que menor fuerza de unión presenta. El adhesivo autograbador XNO es el que

menos se afecta negativamente bajo las distintas condiciones de presión pulpar (PD y PC) seguido de FLB y el que menos fuerza de unión presentó fue el P&B. El tiempo de inmersión reduce la fuerza de unión en los tres adhesivos siendo más evidente en FLB.

- 3) Con respecto la capacidad de sellado tubular y micropermeabilidad de un adhesivo hidrófobo experimental con etanol frente un autograbador (IB) no fue mayor y menor que el adhesivo de grabado ácido (P&BXP).
- 4) Con respecto al nuevo método de medición del *gap interfacial*: se probó con dos adhesivos y se vio que el tamaño del *gap*, tanto en anchura como en longitud, es menor en el XNO que en XPB inicialmente y a las 24 horas.

Conclusiones

La presión pulpar afecta el sellado de la dentina en el momento de aplicar el adhesivo, en función del tiempo y del tipo de adhesivo. XNO obtuvo el sellado más alto en todas las condiciones.

El análisis estadístico ha demostrado como las condiciones de presión pulpar, período de inmersión y tipo de adhesivo afectan a la microtensión negativamente reduciendo la fuerza de unión. El menos afectado fue el XNO y el más perjudicado el FLB.

El adhesivo hidrofóbico logró un mayor sellado que el adhesivo con grabado ácido previo y similar al adhesivo autograbador pero no logró un sellado hermético.

La metodología propuesta para la determinación del tamaño del *gap interfacial* logra medidas fiables y evaluables en función del tiempo. Se ha determinado una relación entre el *gap interfacial* y el sellado.

INDICE

1. JUSTIFICACIÓN.....

2. INTRODUCCIÓN.....

2.1. Esmalte.....

2.2.1. Composición química.

2.2.2. Propiedades físicas.

2.2.3. Estructura del esmalte.

2.2.4. Capas orgánicas de revestimiento.

2.2. Complejo dentino-pulpar.....

2.2.1. Dentina.

2.2.1.1 Composición química.

2.2.1.2 Propiedades físicas.

2.2.1.3. Tipos de dentina.

2.2.1.4. Componentes estructurales.

2.2.2. Pulpa.

2.2.2.1. Componentes estructurales celulares.

2.2.2.2. Zonas topográficas.

2.2.2.3. Vascularización.

2.2.2.4. Inervación.

2.2.3. Dinámica del complejo dentino-pulpar.....

2.2.3.1. Permeabilidad dentinaria.

2.2.3.2. Presión pulpar.

2.2.3.3. Repercusiones clínicas.

2.3. Adhesión.....

2.3.1. Concepto.

2.3.2. Importancia del substrato adherente

- Adhesión a esmalte.

- Adhesión a dentina.

2.3.3. Eficacia de la adhesión:

- Fuerza de adhesión.
- Sellado.
- *Gap* interfacial

2.3.4. Técnica de grabado ácido.

2.3.5. Composición química de los adhesivos dentinarios.

2.3.6. Sistemas adhesivos

- Clasificación por generaciones.
- Clasificación por el modo clínico de aplicación.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1. Diseño del estudio.....

4.2. Evaluación del efecto de la presión pulpar inmediata y diferida en el sellado de cavidades de clase V.....

4.2.1. Preparación de especímenes

- 4.2.1.1. Sistemas adhesivos utilizados.
- 4.2.1.2. Preparación de los especímenes y del dispositivo de presión pulpar.
- 4.2.1.3. Preparación de cavidades.
- 4.2.1.4. Técnica adhesiva y colocación del composite.
- 4.2.1.5. Ensayo de microfiltración y permeabilidad.

4.2.2. Análisis estadístico

- 3.4.1. Estadística descriptiva.
- 3.4.2. Estadística analítica.

4.3. Evaluación del efecto de la presión pulpar inmediata y diferida en la fuerza de unión.....

4.3.1. Preparación de especímenes

- 4.3.1.1. Sistemas adhesivos utilizados.
- 4.3.1.2. Preparación de los especímenes y del dispositivo de presión pulpar.
- 4.3.1.3. Técnica adhesiva y colocación del composite.
- 4.3.1.4. Ensayo de microfiltración y permeabilidad.

4.3.2. Análisis estadístico

4.3.2.1. Estadística descriptiva.	
4.3.2.2. Estadística analítica	
4.4. Estudio de la capacidad de sellado tubular de un adhesivo hidrófobo con microscopia láser confocal.....	
4.4.1. <i>Preparacion de especimenes.</i>	
4.4.2. <i>Sistemas adhesivos utilizados.</i>	
4.4.3. <i>Microscopia confocal láser.</i>	
4.4.4. <i>Estadística.</i>	
4.5. Metodología para la evaluación de la <i>gap interfacial</i> mediante microscopia con focal de luz blanca.....	
4.4.1. <i>Descripción del método.</i>	
4.4.2. <i>Evaluación del gap interfacial de dos sistemas adhesivos.</i>	
4.4.3. <i>Ensayo de microfiltración de los sistemas adhesivos.</i>	
4.4.4. <i>Estadística.</i>	
5. RESULTADOS.....	
5.1. Evaluación del efecto de la presión pulpar inmediata y diferida en la microfiltración de cavidades de clase V.....	
5.2. Evaluación del efecto de la presión pulpar inmediata y diferida en la fuerza de unión.....	
5.2. Estudio de la capacidad de sellado tubular de un adhesivo hidrofófico con microscopia con focal láser.....	
5.3. Metodología para la evaluación del <i>gap interfacial</i> mediante microscopoía confocal de luz blanca.....	

6. DISCUSIÓN.....

7. CONCLUSIONES.....

8. BIBLIOGRAFÍA.....

JUSTIFICACION

La capacidad de los adhesivos para sellar la dentina es uno de los requisitos más importantes para conseguir la durabilidad de las restauraciones de composite¹

El mecanismo de unión a la dentina de gran parte de los sistemas adhesivos existentes en el mercado odontológico actual se basa en la hibridación. En este proceso, las superficies dentinarias son tratadas con agentes condicionantes ácidos, los cuales promueven la desmineralización de la dentina subyacente y consecuente exposición de una red de fibras colágenas. La infiltración de monómeros de resina en la dentina, previamente descalcificada, con las fibras de colágena expuestas posibilita la adhesión resultando de este proceso la formación de la capa híbrida. La capa híbrida es una interfase predominantemente orgánica lo que la hace relativamente hidrofóbica, resistente al ataque ácido y fuerte. Sin embargo a pesar del sistema adhesivo usado la formación de esta capa no es perfecta^{2,3} Debido a la morfología, fisiología y patología tan variada que presenta la dentina^{4,5} limitan el tiempo del procedimiento adhesivo. El agua es necesaria que esté presente para evitar el deterioro de la red de colágena durante la penetración de la resina y la polimerización. Pero a la misma vez provoca una degradación hidrolítica de la capa híbrida con una consecuente reducción de la fuerza de unión y una menor durabilidad de la restauración. Esto se traduce en una biodegradación de la interfase de unión aumentando la microfiltración⁶ lo que dará lugar a futuras caries secundarias.

La fuerza de adhesión a la dentina disminuye con el tiempo por la degradación hidrolítica de los componentes de la capa híbrida, el colágeno por parte de las enzimas colagenolíticas (metalproteinasas MMPs principalmente) y de la resina adhesiva por su carácter hidrofílico. Todo esto da lugar a una insuficiente infiltración de la resina en la dentina y aun menor grado de polimerización en el

momento de la aplicación del adhesivo, disminuyendo la longevidad de la adhesión. De ahí la importancia de inhibir las enzimas responsables de la degradación del colágeno y de la eliminación del agua en la interfase para reducir la hidrólisis de los componentes de la capa híbrida ⁷

Aunque el empleo de la tecnología adhesiva represente un avance para la Odontología, evidencias científicas vienen demostrando que la durabilidad de esta unión es cuestionable ⁸⁻¹⁰ ya que la humedad de la cavidad bucal y de la propia estructura dentinaria podría provocar el fracaso clínico de las restauraciones. Los fallos de los procedimientos restauradores pueden estar relacionados a una incompleta infiltración de los agentes adhesivos en el sustrato dentinario ⁸ llevando a la exposición de fibras colágenas en la interfase diente/restauración. Así, "*in vivo*", estas fibras estarían susceptibles a la disolución, favoreciendo la aparición de fallos adhesivos prematuros ¹¹, debido a la hidrólisis de las fibras colágenas ^{12,13}, a la porosidad creada en la resina ⁹, y/o a la degradación del adhesivo polimerizado .

La presión tisular de la cámara pulpar causa un lento centrifugo fluido de liquido a través de los túbulos dentinarios y humedece la superficie de la cavidad en el momento de la aplicación del adhesivo ¹⁴⁻¹⁵

Varios estudios *in vivo* y *in Vitro* han demostrado el deterioro de la adhesión a la dentina con el paso del tiempo por la degradación hidrolítica de los componentes de la resina y degradación enzimática por hidrólisis de las fibras de colágeno expuestas de la capa de adhesión ¹⁶⁻¹⁸. La presencia de agua actúa como un inhibidor de la polimerización y produce un incremento de plasticidad del material, contribuyendo a la degradación de la resina.

La sobrehidratación causada por la presión pulpar incrementa una mayor absorción de agua por ósmosis por parte del adhesivo generando la formación de glóbulos de agua en la capa híbrida ^{19,20}. Esta absorción de agua es la principal causante de la degradación hidrolítica que termina provocado una disminución de

las propiedades mecánicas y la fuerza del adhesivo^{18,21}. Algunos autores consideran que ese deterioro se produce en el momento de aplicar el adhesivo bajo condiciones de presión pulpar^{22, 23} y otros vieron que el sellado de los túbulos dentinarios lo dificultaban el flujo constante del fluido pulpar²⁴

Estudios realizados con nitrato de plata y microscopia electrónica han desvelado la presencia de porosidades entre resina y la dentina²⁵ haciendo la resina micro permeable, hecho que se ve favorecido por el contenido de moléculas hidrófilicas en su composición¹⁸

Se conoce que los adhesivos son potencialmente sensibles al exceso de humedad en el momento de la aplicación y relativamente micropermeables y degradables a lo largo del tiempo dependiendo de su composición²³. Sin embargo, es importante determinar si el fluido pulpar afecta al sellado durante su aplicación o después por la exposición constante al fluido pulpar. En muchos estudios²⁶⁻²⁸ se ha analizado el efecto de la presión pulpar mantenida desde el momento de la aplicación del adhesivo hasta la finalización del experimento, examinando grupos con presión (presión inmediata) o sin presión pulpar (presión cero). Sin embargo, su metodología no permite determinar la contribución de la sobre hidratación en el momento de la aplicación del adhesivo o el efecto de la micro permeabilidad por la exposición del fluido pulpar a lo largo del tiempo. Por este motivo es necesario incluir un nuevo grupo donde se aplique el adhesivo sin presión y sea activada después del procedimiento adhesivo (presión diferida). El diseño del estudio revelará si el adhesivo es dañado en el momento de su aplicación (por la sobre hidratación) o después de la aplicación y polimerización (por la micro permeabilidad) o si la sobre hidratación causada por la presión pulpar hace al adhesivo más micro permeable causando el mayor deterioro.

Probablemente, si la desmineralización del tejido dentinario ocurriese a la vez que la inserción de los componentes adhesivos ese problema clínico pudiera ser solucionado. Y ésta es la propuesta de los sistemas adhesivos autograbadores, que, al incorporar sustancias ácidas a su composición, promueven

condicionamiento e infiltración simultáneos de los monómeros de resina en la estructura dentinaria, haciendo que haya una interacción entre sistema adhesivo, smear layer y dentina . Tal mecanismo viene propiciando una optimización del tiempo de trabajo y reducción en la sensibilidad de la técnica adhesiva ²⁹ Sin embargo, el carácter hidrofílico del sistema adhesivo es la principal causa para la reducción de la resistencia adhesiva a lo largo del tiempo. La inclusión de monómeros altamente hidrofílicos en los sistemas adhesivos, particularmente en los autograbadores, transforma los adhesivos en membranas permeables extremadamente susceptibles a los efectos degradantes del agua ³⁰

Otro factor que contribuye a la degradación hidrolítica de la capa híbrida es el carácter hidrofílico del adhesivo. Se ha probado a modificar la composición química de los adhesivos, entre uno de los modos, eliminando el HEMA (componente común hidrofílico) ³¹ Actualmente no hay muchos estudios realizados con adhesivos libres de HEMA y los resultados son conflictivos pero parece ser que se observa una menor fuerza de adhesión ^{32,33}. También se ha probado a añadir etanol al adhesivo (Técnica adhesiva húmeda basada en etanol) para que contribuya a la deshidratación de la matriz de dentina desmineralizada, facilitando la infiltración de los monómeros hidrófobos en el interior de la dentina ^{2,34}. Este hecho hace que disminuya la absorción de agua, solubilidad y la plastificación de la resina lo que conlleva a la prevención o una menor hidrólisis enzimática del colágeno ³⁵

Además del papel que puede ejercer el fluido pulpar en la biodegradación de la interfase de unión, otro factor que contribuye a la microfiltración es el *gap interfacial* que se produce por la contracción al polimerizar del composite ^{36,37,38} . Las consecuencias de ese deterioro marginal provocan desde una simple sensibilidad postoperatoria que puede ser temporal hasta lo más grave que es la aparición de una caries secundaria con el paso del tiempo ³⁹. Por este motivo resulta interesante el desarrollo de un método sencillo para poder medir la anchura y longitud de ese *gap* interfacial y analizar el grado de microfiltración que genera a

lo largo del tiempo.

A pesar de los grandes adelantos tecnológicos en el área de los materiales dentales, no se ha encontrado todavía una técnica de restauración adhesiva totalmente predecible; las técnicas adhesivas con las que se cuenta hoy en día son sensibles en cada una de sus fases clínicas, por lo tanto, es importante conocer y manejar una serie de variables que permitan optimizar los resultados clínicos.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Esmalte

Es un tejido ectodérmico que cubre la corona anatómica del diente. Se une al complejo dentino-pulpar en la unión amelodentinaria y al cemento en la unión amelodentinaria⁴⁰. Su grosor varía según su localización siendo mayor sobre el borde incisal o las cúspides desde donde va disminuyendo hacia la línea cervical.

Funcionalmente proporciona al diente una superficie dura que permite la masticación además de proteger los tejidos subyacentes⁴¹.

2.1.1. Composición química

Es el tejido más mineralizado que se conoce. Consta, en peso, de un 96% de componente inorgánico frente a un 1% de componente orgánico y un 3% de agua. En relación al volumen las proporciones son de un 89%, 2% y 9% respectivamente⁴¹.

En su estructura se observa la mayoría de su volumen ocupado por cristales de apatita en sus formas hidroxilada, fluorada y carbonatada, siendo la más abundante la hidroxiapatita⁴¹.

El calcio y el fósforo son los principales elementos inorgánicos, pero también pueden aparecer aluminio, bario, magnesio, estroncio, radio, vanadio, plomo, hierro, sodio, potasio y flúor⁴⁰.

El componente orgánico del esmalte se distribuye en los espacios que deja libre el material inorgánico y está formado principalmente por proteínas. Las proteínas características del esmalte, además de la albúmina que también aparece en la dentina, se clasifican en dos grupos principales que son las

ameloeninas y las enamelinas⁴¹.

2.1.2. Propiedades físicas

El esmalte es translúcido, el color varía entre un blanco amarillento a un blanco grisáceo, pero este color no es propio del esmalte, sino que depende de las estructuras adyacentes, en especial de la dentina. La transparencia puede atribuirse a variaciones en el grado de calcificación y homogeneidad del esmalte. Cuanto más mineralizado más transparente será.

Es un tejido muy duro por su alto contenido mineral, encontrándose en un rango de 200-500 Knoop y un valor entre 5 a 8 en la escala de Mohs. Resistente a ser rayado o a sufrir deformaciones de cualquier índole, motivadas por presiones⁴¹.

Por otra parte el esmalte posee una elasticidad muy escasa pues depende de la cantidad de agua y sustancia orgánica que presente. Por ello es un tejido frágil, con tendencia a las macro y microfracturas, cuando no tiene un apoyo dentinario elástico⁴¹.

El esmalte no es un tejido impermeable sino que está dotado de cierta porosidad y permeabilidad, existiendo un gradiente de fluidos entre la pulpa y el medio oral en el que participa el esmalte. Esta permeabilidad es selectiva, permitiendo la difusión de agua e iones pero excluyendo el paso de moléculas grandes. Esta propiedad va disminuyendo con la edad del diente⁴⁰.

Otra propiedad con la que cuenta el esmalte es la elevada radiopacidad ya que se trata de un tejido muy mineralizado.

2.1.3. Estructura del esmalte.

La unidad primaria o básica de este tejido son los prismas del esmalte, estructuras compuestas por cristales de hidroxiapatita. Estos prismas adoptan una disposición cristalina, que da lugar a cristales alargados e irregularmente hexagonales.

Los prismas son estructuras longitudinales de 4 micras de espesor promedio, que se dirigen desde la conexión amelodentinaria hasta la superficie del esmalte. El número varía en relación con el tamaño de la corona evaluándose entre 5 y 12 millones⁴¹.

Al estudiar la morfología de los prismas con el microscopio óptico y dependiendo de la incidencia de los cortes, éstos se observan como bandas delgadas irregularmente paralelas en cortes longitudinales. En los cortes transversales los prismas se presentan como secciones irregularmente hexagonales, ovoides o en “escamas de pescado”. Con la microscopía electrónica de barrido en cortes longitudinales se observan como bastones irregularmente paralelos y en cortes transversales con una morfología en “ojo de cerradura de llave antigua”. Ello permite distinguir dos regiones: cabeza (parte más ancha) y cola (parte más delgada). Los prismas del esmalte son estructuras que se encuentran estrechamente asociadas unas a otras. Las cabezas de los prismas se encuentran siempre ubicadas entre las colas de los prismas supra yacentes y las colas de cada prisma ubicadas entre las cabezas de los prismas subyacentes. Este sistema de engranaje le confiere al esmalte mayor resistencia, pues la cabeza soporta los choques de las fuerzas masticatorias y las colas las distribuyen y las disipan⁴⁰.

El conjunto de prismas del esmalte forma el esmalte prismático que

constituye la mayor parte de este tejido dentario. En la periferia de la corona y en la conexión amelodentinaria existe el denominado esmalte aprismático en el que la sustancia adamantina mineralizada no constituye ni configura prismas. El origen del esmalte aprismático se relaciona con la ausencia o menor desarrollo de los procesos de Tomes de los ameloblastos, responsables de la formación de los prismas y de la disposición cristalina. El esmalte aprismático representa un serio inconveniente desde el punto de vista clínico cuando se utiliza el grabado ácido, pues no se logran microrretenciones (al no existir los prismas) y por ello se aumenta el tiempo de grabado o se elimina el esmalte periférico⁴².

Las unidades estructurales secundarias son las variaciones estructurales que se originan a partir de las primarias, como resultado del diferente grado de mineralización o del cambio del recorrido de los prismas y de la interrelación del esmalte con la dentina subyacente o la periferia medioambiental. Entre las primeras encontramos las *estrías de Retzius* y los *penachos de Linderer*; entre las segundas las bandas de *Hunter-Schreger* y el *esmalte nudoso* y entre las terceras *la conexión amelodentinaria*, los *husos adamantinos* (formaciones tubulares que alojan a las prolongaciones de los odontoblastos capaces de transmitir estímulos) y las *periquimatías* y *líneas de imbricación de Puckerill*.

2.1.4. Capas orgánicas de revestimiento.

Durante toda la vida de la corona de un diente está cubierta por un revestimiento orgánico.

Antes de que el diente erupcione la corona del diente está cubierta por una delicada membrana denominada cutícula del esmalte o membrana de Nasmyth. Esta membrana corresponde con la última secreción de los ameloblastos. Está fuertemente adherida a la superficie del esmalte y posiblemente tiene la función de proteger al diente durante el período de erupción dentaria, pero desaparece cuando el diente entra en oclusión por acción del acto masticatorio o del cepillado

permaneciendo quizás en aquellas zonas más protegidas como son las zonas interproximales.

Tras la erupción se va perdiendo la cutícula del esmalte y se va formando la película secundaria, exógena o adquirida formada por un precipitado de proteínas salivales y elementos inorgánicos provenientes del medio bucal. Sobre ella se forma la placa dental o bacteriana que es la colonización bacteriana de la superficie de la película adquirida ⁴¹

2.2. Complejo dentino-pulpar

El tejido pulpar y dentinario conforman una estructura embriológica (mismo origen a partir de la papila dental) y funcionalmente una verdadera unidad biológica conocida como *complejo dentino-pulpar*.

2.2.1. Dentina

La dentina es el tejido que constituye la mayor parte del volumen del diente, proporcionándole la forma y rigidez necesarias para que su función masticatoria sea eficaz. La corona está cubierta por el esmalte y en la raíz por el cemento ⁴⁰. Interiormente delimita una cavidad, denominada cámara pulpar, que contiene a la pulpa dental (único tejido blando del diente) ⁴¹.

2.1.1.1. Composición química

La dentina es un tejido conjuntivo duro y está compuesto aproximadamente de un 50% de materia inorgánica, de un 30% de materia orgánica (fibras de colágena y proteínas) y de un 20% de agua⁴

La matriz inorgánica es el principal componente es la *hidroxiapatita*, que se

encuentra en forma de cristales, similares químicamente a los del esmalte, cemento y hueso pero más pequeños. Entre estos cristales existen una cierta cantidad de carbonatos, fosfatos amorfos, sulfatos y oligoelementos como el flúor, cobre, hierro, zinc, magnesio, etc.⁴⁰

La matriz orgánica está constituida por varios componentes entre los que destaca *colágeno tipo I* en un 90%, que es sintetizado por el odontoblasto. Otras proteínas que se encuentran en la dentina son fosfoproteínas, glucoproteínas ácidas y proteínas del plasma (albúmina, fosfolípidos y factores de crecimiento)^{42,43}

Composición del hueso, la dentina y el esmalte (%)

Componente	Hueso	Dentina	Esmalte
Agua	8	5	4
Material mineral	70	75	95
Material orgánico	22	20	0.6
Colágeno	18.6	18	0.35
Otras proteínas	1	0.2	0.2
Otras biomoléculas	2.4	1.8	0.05
Densidad	2.03	2.15	3.05

2.1.1.2. Propiedades físicas

La dentina presenta un color blanco amarillento aunque puede depender del grado de mineralización, vitalidad pulpar, edad y los pigmentos endógenos o exógenos. Al ser el esmalte translúcido el color del diente se lo da la dentina⁴⁰.

La dentina es menos translúcida que el esmalte, debido a su menor grado de mineralización.

Con respecto a la dureza está determinada por el grado de mineralización y

la edad del diente. Es mucho menor que la del esmalte y mayor que la del hueso y cemento.

La radiopacidad también depende del contenido mineral y así mismo resulta menor que la del esmalte y algo superior a la del hueso y cemento.

La elasticidad que presenta la dentina es de gran importancia funcional ya que permite compensar la rigidez del esmalte, amortiguando los impactos masticatorios. Varía de acuerdo al porcentaje de sustancia orgánica y al agua que contiene.

El tejido dentinario se caracteriza principalmente por su alta permeabilidad debido a la presencia de los numerosos túbulos dentinarios que permiten el paso a distintos elementos con relativa facilidad. Dicha propiedad tiene una gran repercusión clínica que analizaremos más adelante con más profundidad.

2.1.1.3. Tipos de dentina

La primera dentina que se forma desde el inicio del desarrollo dentinario hasta que se completa la formación de la raíz se le denomina *dentina primaria*. La capa externa de esta dentina es la denominada *dentina del manto* y al resto se le denomina *dentina circumpulpar*. La dentina del manto se diferencia de la circumpulpar en que se trata de una capa más delgada (20 micras de espesor), está menos mineralizada, las fibras de colágeno son más gruesas y poseen un mayor número de túbulos.

A continuación se forma la *dentina secundaria* después de que se ha formado la raíz. Posee una estructura similar a la dentina primaria, aunque menos regular, menos mineralizada y no se forma de manera uniforme en la periferia de la pulpa; se deposita preferentemente en el techo y el piso de la cámara pulpar de un modo lento y continuo a lo largo del tiempo haciendo que

las dimensiones de la cámara y conductos radiculares disminuyan con la edad.

Y por último se deposita la *dentina terciaria* también denominada reactiva, reparativa o neodentina^{44, 45}. Se produce como respuesta a estímulos nocivos que generen trauma (ej.: oclusal) o irritación (ej.: caries) a la dentina. Está formada por los odontoblastos de la zona que se ve afectada por el estímulo nocivo. La cantidad y la calidad de esta dentina dependen de la intensidad del estímulo nocivo. Con estímulos más agresivos, el patrón tubular es más irregular y puede presentar células incluidas (osteodentina). Sin embargo en respuesta a estímulos menos agresivos el patrón tubular es más regular y no presenta células incluidas. En ambos casos la formación de dentina terciaria se traduce en una significativa disminución de la permeabilidad dentinaria llegando ser en algunos casos casi nula⁴⁵

2.1.1.4. Componentes estructurales

Los *túbulos dentinarios* son estructuras cilíndricas delgadas que se extienden por todo el espesor de la dentina desde la pulpa hasta la unión amelodentinaria. En su interior, el contenido tubular está formado por líquido tisular y por la prolongación odontoblástica principal o fibrilla de Tomes. Siguen un trayecto en S itálica siendo menos pronunciado en la dentina radicular y a nivel de bordes incisales o cúspides donde puede llegar a ser recto. Presentan ramificaciones colaterales o túbulos secundarios muy delgado.

Multitud de protocolos experimentales han sido llevados a cabo desde hace muchos años por diversos investigadores con el fin de establecer las características fisiológicas del túbulo dentinario. Una de las experiencias pioneras fué la de Lefkowitz⁴⁶, al cual observó como un colorante inyectado en la pulpa llegaba a toda la dentina en poco más de media hora. Otros investigadores^{47,48} utilizando urea, tiourea, y acetamida marcadas, comprobaron su paso a la dentina, pero intuyeron que éste se veía facilitado al atacar el colorante al tejido pulpar;

pero, utilizando un colorante como el azul Tripan por vía intravenosa, este alcanzaba también la dentina con la pulpa íntegra. Por otra parte, en dientes extraídos el comportamiento de colorante marcados con C14 y determinado mediante autorradiografías se evidencia en dentina a la media hora de su incorporación al diente, el mismo tiempo que tarda el colorante en llegar a la dentina desde la pulpa cuando esta está íntegra, lo cual parecía sugerir que se daba un fenómeno de difusión y no de presión tisular. En este sentido el experimento clásico de Bodecker y Lefkowitz ⁴⁹ es clarificador: tras practicar una cavidad en el seno de la dentina, esta fue ocupada por un colorante y posteriormente obturada; el colorante pasa de la cavidad a esmalte, a dentina y a pulpa, y de esta a zonas dentinarias más alejadas y al esmalte próximo a éstas.

La estructura tubular de la dentina, puede servir de retención microscópica, pero hay que tener en cuenta que, la densidad de los túbulos por mm es muy variable. Dado al mayor volumen de tejido dentinario a nivel periférico que a nivel pulpar, el número de túbulos por unidad de superficie es mayor en zonas próximas a la pulpa, que en zonas próximas al esmalte. Estos valores a su vez cambian, dependiendo de condiciones individuales. Los autores no se ponen de acuerdo, hay diferencias entre 25.000/mm² y 70.000/mm² de túbulos dentinarios para zonas próximas a la pulpa y entre 15.000/mm² y 30.000/mm² de túbulos dentinarios en zonas periféricas ⁴⁰

La zona de la dentina próxima al esmalte es, no sólo donde los túbulos son más estrechos, sino que es el área en la que comienzan los cambios que tienden a obliterarlos. Así, con la edad se van cerrando los túbulos dentinarios debido al crecimiento de la dentina peritubular y por la aposición de grandes masas de hidroxiapatita. Es, por lo demás, la misma situación que ocurre en las reacciones de defensa ante caries, trastornos regresivos (erosión, atrición, abrasión), traumatismos, tallados, etc., en los que aparecen fenómenos de esclerosis dentinaria, dentina de tractos muertos, o dentina translúcida; o el caso de la producción de dentina secundaria o terciaria, en la cual los túbulos se

desestructuran y reducen su número. Diversos trabajos experimentales han mostrado la influencia de estos procesos sobre la permeabilidad dentinaria. Tagami y cols.⁴⁷ trabajando con dentina joven y vieja llegaron a estos resultados: la dentina normal vieja presentaba un 20% menos de permeabilidad que la joven (medida por conductancia hidráulica); pero, la dentina joven cariada, solamente presentaba una permeabilidad equivalente al 14 de la permeabilidad de la dentina joven sana, y la dentina vieja cariada se mostraba impermeable. Por su parte, Elizova y Dimitrieva⁴⁸ determinaron que en el fondo de cavidades, la permeabilidad era mayor en las caries profundas que en las moderadas, y aún más alta en aquellos dientes que no habían sido tratados antes.

Garberoglio y Brännström⁵⁰ realizaron un estudio en el cual evaluaron la relación existente, entre la distancia a la pulpa, el radio tubular, el número de túbulos próximos a la misma y la cantidad de fluido que sale a través de ellos (Tabla1). Observaron que el área de dentina ocupada por los túbulos es de 1% en la unión de la dentina con el esmalte, y aumenta hasta 45% a nivel de la cámara pulpar. Las implicaciones clínicas de esto son enormes. Al exponerse mayor cantidad de dentina profunda por procedimientos restauradores, atrición o enfermedad, la dentina restante se hace cada vez más permeable^{51,52}. Por consiguiente, aunque es necesaria la eliminación de dentina, esto hace a la pulpa más susceptible a la irritación química o bacteriana. Esta consecuencia funcional de la zona tubular es también la causa del descenso de la microdureza de la dentina más cercana a la pulpa al aumentar la densidad tubular, disminuye la cantidad de matriz calcificada entre los túbulos.

Tabla 1. Relación entre la distancia pulpar, radio tubular y número de túbulos dentinarios (datos calculados por Garberoglio y Brännstöm ⁵⁰)

--Distancia de la pulpa	Nº de túbulos *106/ cm2	Radio de los túbulos*104/cm-4
0	4.5	1.25
0.1-0.5	4.3	0.95
0.6-1.0	3.8	0.80
1.1-1.5	3.5	0.60
1.6-2.0	3.0	0.55
2.1-2.5	2.3	0.45
2.6-3.0	2.0	0.40
3.1-3.5	1.9	0.40

Otro objetivo de este estudio radica en determinar la cantidad de fluido dentario (95% de agua) que es aproximadamente igual al contenido de agua tubular. El contenido de agua en dentina cerca de la unión amelodentinaria constituye el 1% del volumen, mientras que el contenido de agua en dentina cerca de la pulpa es del 22%.

La dificultad de adhesión en dentina profunda es causada, en parte, por el alto contenido de agua, el cual compite con el monómero de resina por la superficie de las fibras colágenas⁵³

Así pues, a medida que profundizamos en dentina, las condiciones para la adhesión se van tornando más desfavorables, debido al mayor tamaño de los túbulos dentinarios lo que se traduce en un aumento de la permeabilidad ⁵⁴⁻⁵⁶y un posterior deterioro de la fuerza de adhesión (hasta de un 30-50%) según se ha discutido en recientes revisiones ^{55,56}. Los túbulos dentinarios próximos a la pulpa están totalmente abiertos cuyo diámetro alcanza hasta 4 micras y cuando nos

alejamos en dirección amelodentinaria, la luz del túbulo va disminuyendo (a modo de cono invertido), llegando a cerrarse totalmente, como consecuencia ⁵⁷:

- Formación de dentina peritubular.
- Tras la retirada centrípeta de la prolongación citoplasmática del odontoblasto.
- Mayor presión de los fluidos en su interior.
- Menor cantidad de dentina intertubular.

Otra cuestión muy debatida es si el proceso dentinoblastico ocupa todo el volumen disponible en el túbulo. Para algunos autores ^{53,57} llenan todo el diámetro tubular, con algunas excepciones muy localizadas, sin que éstas justifiquen la existencia de zonas de secreción y un determinado flujo de sustancias hacia la pulpa. En el extremo distal del proceso dentinoblastico, cuando el túbulo no es ocupado por aquél, aparecen acúmulos de sustancias amorfas y gruesas fibras de colágeno, o nada. Precisamente, el extremo final del proceso dentinoblastico tampoco sugiere que hayan fenómenos secretorios, ya que su citoplasma sólo presenta una fina granulación, no apreciándose orgánulos.

En cambio, sí hay una gran riqueza de orgánulos en el extremo proximal de las prolongaciones dentinoblasticas, en la zona de la predentina, posiblemente involucrados con los mecanismos de mineralización ⁴⁰ Esta zona, rica en desmosomas, parece que establece una barrera selectiva a algunos trazadores ⁵¹; gracias a esta barrera no se dificultaría la nueva aposición de material calcificado.

En cualquier caso, los túbulos están permanentemente bañados en líquido ⁵², el cual ofrece un flujo bidireccional ; es decir, no hay una microcirculación, pero sí un movimiento de fluidos, como ha sido contrastado por medio de diversos marcadores: nitrato de lantano y peroxidasa, vitamina C y glicina tritiada , o Sr90 . Gracias a este flujo, se incorporan a la dentina, por ejemplo, las tetraciclinas ; y también gracias a él, en la caries, pasan al túbulo sales provenientes de la circulación pulpar.

Otro componente estructural sería la *dentina peritubular* que es la dentina que se forma en la luz de los túbulos dentinarios. Forma un anillo hipermineralizado de dentina, siendo mayor su grosor a nivel del límite amelocementario que a nivel pulpar. Es una dentina altamente mineralizada, por lo que su matriz orgánica es muy pobre en fibras colágenas. Su formación es un proceso continuo aunque se puede ver acelerado por factores ambientales y patológicos pudiendo e incluso obliterar la luz de túbulo⁴⁰.

También podemos observar la *dentina intertubular* que es la que se encuentra entre la dentina peritubular y constituye la mayor parte del diente. Está formada por una red de fibras de colágenas sobre las cuales se depositan los cristales de apatita y éstos orientan sus ejes mayores paralelos al eje mayor de la fibrilla de colágena. Fibras que se disponen perpendicularmente respecto a los túbulos dentinarios. Esta dentina está menos calcificada que la peritubular por su mayor contenido en colágeno.

La *dentina interglobular o espacios interlobulares de Czemak* está formada por zonas de dentina no mineralizadas o hipomineralizadas que persisten dentro de la dentina madura. La matriz de colágena no tiene ningún defecto. Es más frecuente encontrarla en la dentina circumpulpar debajo de la dentina del manto.

Y por último se halla la *capa Granular de Tomes* que es la zona que se encuentra justo por debajo de la superficie dentinaria donde la raíz está cubierta por cemento. Se piensa que estos gránulos corresponden a espacios huecos y se han explicado como cortes a través de las porciones curvas de los túbulos dentinarios a este nivel.

2.2.2. Pulpa

Es el único tejido blando del diente. Se trata de un tejido conjuntivo laxo que ocupa la cámara pulpar en la corona y los conductos radiculares en la raíz del diente.

La pulpa se halla en contacto íntimo con la dentina y sobrevive sólo gracias a la protección de su cubierta externa dura. A cambio de esta protección, la pulpa contribuye a una simbiosis íntima. La forma en que la pulpa normal se relaciona con su entorno inmediato puede explicarse mejor haciendo una revisión de su propia morfología y de los tejidos con los que confluye en especial con la dentina. En general, la pulpa presenta homogeneidad en su combinación de células, sustancia intercelular, elementos fibrilares, vasos y nervios.

2.1.1.1. Componentes estructurales celulares

La mayor parte de las células de la pulpa son los *fibroblastos*. Éstos varían ampliamente en su grado de diferenciación. Baume se refiere a ellos como células mesenquimatosas, pulpoblastos o pulpocitos, orden progresivo de maduración. Son células fusiformes con núcleos ovoides. Sintetizan y secretan la mayor parte de los componentes extracelulares, o sea, el colágeno y la sustancia fundamental. Además se encargan de eliminar el exceso de colágeno en su recambio en la pulpa por la resorción de fibras de colágeno. Está demostrado que esto ocurre en el interior de la célula por la acción de enzimas lisosómicas, que prácticamente digieren los componentes del colágeno⁵⁸.

Otro tipo de células muy importantes en la pulpa son las células de defensa entre las que destaca los *histiocitos*, *macrófagos*, *leucocitos polimorfonucleares*, *linfocitos*, *células plasmáticas*, *células cebadas*.

Los histiocitos y macrófagos son células mesenquimatosas indiferenciadas que rodean a los vasos sanguíneos. Son células muy fagocíticas y pueden eliminar bacterias, cuerpos extraños, células muertas y otros residuos(48 endo). Al parecer, estas células guardan relación con la vigilancia inmunitaria pulpar.

La forma más habitual del *leucocito* en la inflamación pulpar es el neutrófilo. No suelen hallarse en pulpas sanas e ilesas, al ocurrir lesión y muerte celular emigran con rapidez hacia zonas afectadas desde capilares y vénulas cercanas. Son el principal tipo de células que se encuentra en la formación de microabscesos, y son muy eficientes en destruir y fagocitar bacterias o células muertas. Por desgracia, su participación a menudo lesiona células adyacentes y contribuye al desarrollo de zonas de inflamación más amplias.

Los linfocitos y células plasmáticas a menudo aparecen tras la invasión del área lesionada por los neutrófilos. No se encuentran en tejido pulpar sano por lo tanto su presencia indica que hay algún irritante persistente.

Las células cebadas raras veces se encuentran en pulpa normales y sanas pero sí se hallan con frecuencia en pulpas inflamadas. Liberan sus gránulos que contienen histamina hacia el líquido de los tejidos contiguos durante la inflamación. Puesto que estas células por lo general se encuentran cerca de los vasos sanguíneos la liberación de la histamina cerca del músculo liso vascular ocasiona vasodilatación aumentando de este modo la permeabilidad del vaso y permitiendo el escape de líquido y leucocitos.

La principal célula de la capa formadora de dentina es *el odontoblasto*. Es el primer tipo de célula que se encuentra al acercarse a la pulpa desde la dentina. Son células que forman una capa en la zona más periférica de la pulpa emitiendo prolongaciones citoplasmáticas que se alojan en la dentina.

Investigaciones más recientes indican que el proceso odontoblástico puede ocupar toda la longitud del túbulo dentinario pudiendo llegar a alcanzar el límite amelocementario (71y72 libr endo).

Las actividades de síntesis y secreción hacen que el odontoblasto sea muy polarizado; la síntesis tiene lugar en el cuerpo celular, y la secreción, en la proyección odontoblástica. El cuerpo celular contiene organelos que representan diferentes etapas de la secreción del colágeno, glucoproteínas y sales de calcio. La secreción de matriz precede a la mineralización, y ambos fenómenos están separados en tiempo y espacio por la predentina.

Los odontoblastos en la región coronaria alcanzan la cifra aproximada de 45.000 por mm² y su número disminuye sensiblemente en la zona radicular. El tamaño celular es también mayor en la corona que en la raíz. Las variaciones morfológicas están en directa relación con su actividad funcional.

Las lesiones pulpares consecutivas a la preparación conservadora de una cavidad ya no se atribuyen tanto a la amputación de las prolongaciones odontoblásticas, sino a desecación, calor y efectos osmóticos.

Los odontoblastos son células que no se dividen una vez diferenciadas y se piensa que su longevidad coincide con el diente. Sin embargo se sabe que, ante determinados estímulos, el odontoblasto a través de su prolongación, puede todavía modificar la estructura dentinaria mediante la producción de dentina peritubular. Al ser irritado el odontoblasto puede acelerar la formación de dentina peritubular hasta el punto de la oclusión completa del túbulo(81-83 endo). En otros casos los odontoblastos irritados puede secretar colágeno(84 endo), material amorfo o grandes cristales hacia la luz del túbulo; estas oclusiones dan lugar a decrementos en la permeabilidad de la dentina o sustancias irritantes ⁵⁹.

Las células mesenquimáticas indiferenciadas constituyen la población de

reserva pulpar por su capacidad de diferenciarse en nuevos odontoblastos, fibroblastos o macrófagos, según el estímulo que actúe.

Un componente importante en la pulpa son las *fibras*. Las que se encuentran en la pulpa son de *colágeno I* (en un 60%) y *III* (en un 40%). Éstas forman un estructura reticular laxa para sostener otros elementos estructurales de la pulpa. El colágeno es sintetizado y secretado por los odontoblastos y fibroblastos aunque no es del mismo tipo. El contenido de fibras aumenta con la edad y se va organizando en haces fibrosos. Además contiene fibras reticulares(en pulpas jóvenes) y fibronectina.

Por tanto, la matriz pulpar difiere de la dentinaria por la presencia de fibras de colágena tipo III y la fibronectina.

El componente que constituye la mayor parte del órgano pulpar es la *sustancia fundamental*. Está constituida por proteoglicanos y agua. El proteoglicano de mayor importancia es el *ácido hialurónico*⁶⁰ ya que es el encargado entre otras cosas de mantener la fluidez, la permeabilidad y de regular el transporte de metabolitos e impedir la difusión de microorganismos.

La sustancia fundamental se comporta como un verdadero medio interno, actuando como medio de transporte de nutrientes y productos de desecho desde los vasos a las células, y de metabolitos en sentido inverso.

2.2.2.2. Zonas topográficas

En la periferia de la pulpa adyacente a la dentina calcificada se encuentra la *zona odontoblástica* está constituida por los odontoblastos dispuestos en empalizada. Los cuerpos celulares se conectan entre sí.

En el centro de estos odontoblastos de la capa periférica está la *zona subodontoblástica o capa basal de Weil* es una zona pobre de células. Los plexos de capilares y de pequeñas fibras nerviosas se ramifican en esta capa Su grosor aumenta con la edad.

En las profundidades de la capa odontoblástica se halla la *zona rica en células* que se caracteriza por su alta densidad celular destacando las células mesenquimáticas y los fibroblastos que originan las fibras de Von COF que perpetúan la población de odontoblastos mediante proliferación y diferenciación.

La zona central de la pulpa está formada por el tejido conectivo laxo con sus distintos tipos celulares (fibroblastos, células mesenquimáticas y macrófagos), escasas fibras inmersas en la matriz extracelular amorfa y abundantes vasos y nervios.

2.2.2.3. Vascularización

Diversos investigadores han descrito *el riego sanguíneo* de la pulpa dental ⁶¹. Los vasos entran y salen de la pulpa por los forámenes apicales principales y accesorios. Una, a veces dos, arteriolas principales (150 micras de diámetro) entran en el diente junto a los haces nerviosos simpático y sensitivo. Se sitúan en la porción central de la pulpa y van emitiendo vasos colaterales que se ramifican en la zona subodontoblástica llegando a formar una red de capilares extensa.

El sistema eferente está formado por un sistema de vénulas con un diámetro similar a las arteriolas pero con paredes más delgadas y con menos capa muscular.

La *circulación linfática* de la pulpa corresponde a un sistema de tipo primitivo, si se le compara con la que poseen otras regiones del organismo e incluso es discutible presencia de linfáticos pulpaes.

Los vasos linfáticos de la pulpa se originan en la región periférica de la pulpa y se unen a otros capilares linfáticos para formar vasos colectores. Diversos autores, utilizando métodos histológicos y funcionales, han descrito anastomosis considerables entre vasos linfáticos de la pulpa, el ligamento periodontal y el hueso alveolar.

2.2.2.4. Inervación

Varios haces nerviosos, cada uno de los cuales contiene diversos nervios desmielinizados y mielinizados, pasan hacia cada raíz a través del agujero apical. En su mayor parte son no mielinizados y casi todos son parte de la división simpática del sistema nervioso autónomo; se ha demostrado que éstos ocasionan reducciones en el flujo sanguíneo pulpar cuando son estimulados⁶². Los restantes son nervios sensoriales mielinizados del sistema de trigémino.

Las fibras de nervios mielinizados se ramifican considerablemente bajo la zona rica en células, para formar el plexo de Raschkow. A partir de aquí, muchas fibras pierden su vaina de mielina y pasan a través de la zona libre de células, para terminar como receptores o como terminaciones nerviosas libres, cerca de los odontoblastos; otras pasan entre éstos y transcurren una breve distancia hacia los túbulos dentinarios adyacentes a las prolongaciones odontoblásticas. Las terminaciones nerviosas se extienden más allá de la unión entre dentina y esmalte; más bien, se encuentran sólo en túbulos de dentina interna y la predentina, en los odontoblastos o entre ellos. Byers observó que los nervios intradentarios pasan alrededor de 100 μm hacia los túbulos, sea cual sea el

espesor de la dentina. Quizá las fibras nerviosas no puedan ser nutridas a una distancia de difusión de más de 100 μ . Es significativo que los nervios sensoriales de la pulpa respondan a estímulos nocivos sólo con sensación de dolor, sea cual sea la índole de éstos. Se produce dolor, independientemente de que el estímulo se aplique a la dentina o a la pulpa. Este hecho puede ser explicado por la teoría hidrodinámica, según la cual el movimiento de líquido dentro de los túbulos estimula las terminaciones de nervios sensoriales distantes.

La cantidad y la concentración de los nervios varían según la etapa del desarrollo del diente y también con la ubicación. Fearnhead y otros comunicaron que muy pocos nervios aparecen en la pulpa humana antes de la erupción. Después de ésta se encontró el mayor número de nervios en los cuernos pulpares. El número de nervios por túbulo desciende a casi el 4.8% en las partes más laterales de la dentina coronal, y a menos de 1% en la región cervical y solo hay uno que otro nervio en la dentina radicular. Las regiones de sensibilidad también se correlacionan, por cuanto la pulpa y la dentina coronales son más dolorosas a los estímulos que la pulpa y la dentina radiculares.

Bernick, al observar los efectos de la caries y las restauraciones en los nervios subyacentes en la pulpa⁶³, encontró degeneración del plexo subodontoblástico de los nervios, asociada con la producción de dentina irritacional. Concluyó que “los nervios terminales de la pulpa lesionada son sensibles a los productos nocivos de la caries y a los procedimientos restauradores ocurriendo una evidente disminución de la sensibilidad de los dientes restaurados”.

2.2.3. Dinámica del complejo dentino-pulpar

Mientras la dentina esté cubierta en la periferia por esmalte sobre las superficies coronales, y por cemento sobre las radiculares, la pulpa dental suele permanecer sana durante toda la vida, a menos que la irrigación sanguínea apical sea alterada por fuerzas ortodóncicas excesivas o traumatismos por impacto importante. La mayor parte de las afecciones pulpares patológicas comienzan con la pérdida de una o ambas barreras protectoras, debido a caries, fracturas o abrasión. El resultado es la comunicación de los tejidos pulpares blandos con la cavidad bucal a través de los túbulos dentinarios, según han demostrado en estudios de penetración de colorantes y por experimentos con marcadores radiactivos⁶²

Es evidente que determinadas sustancias penetran con facilidad en la dentina, permitiendo que los irritantes térmicos, osmóticos y químicos actúen sobre los componentes de la pulpa. Las etapas iniciales implican a el estímulo o la irritación de los odontoblastos, y pueden avanzar a la inflamación y a menudo a la destrucción de los tejidos.

2.2.3.1. Permeabilidad dentinaria

Según los estudios de Pashley⁶⁴, podemos diferenciar tres procedimientos diferentes para el paso de los diversos solutos por el túbulo dentinario.

Debido a la presión de los flúidos intersticiales de la pulpa se produce un movimiento en masa de ese flúido. Cuando la circulación pulpar esta intacta, hay una pequeña presión hidrostática que se dirige hacia la periferia y a la que se oponen el esmalte, el cemento, el barrillo dentinario, y las obturaciones. Esta presión disminuye, por ejemplo, con los vasoconstrictores de los anestésicos; y aumenta con los procesos inflamatorios. Este tipo de transporte puede darse

también en sentido inverso, ésta ocurrirá cuando se aumente la presión exterior, al morder, y al colocar restauraciones dentarias tanto por técnica directa como por indirecta (cementado). El llamado transporte convectivo se rige por la ecuación de Pouesille-Hagen:

$$J_v = \frac{pDP^4}{8hL}$$

En la que DP es el gradiente de presión durante el movimiento, r es el radio de la sección tubular, L es la longitud del túbulo, y h la viscosidad del fluido. Según esta fórmula, el paso de fluidos depende enormemente del diámetro del túbulo, de forma que pequeños cambios en éste son capaces de modificar mucho la permeabilidad dentinaria (26). La longitud del mismo (L) influye en la medida que aumenta la resistencia por fricción. Hay que tener en cuenta que en el transporte convectivo no se tiene en cuenta aspectos de disipación de solutos.

El transporte por difusión es otra posibilidad para el paso de productos a través del túbulo dentinario. De la misma manera que para el transporte convectivo se pueden relacionar las variables que intervienen en él con la siguiente relación:

$$J_s = D_s A_s \cdot \frac{DC_s}{DX}$$

Donde D_s es el coeficiente de difusión, A_s es la superficie disponible para la difusión que será lógicamente equivalente a la sección del túbulo y la densidad de éstos ($\rho r^2 N$), DC_s es el cambio en la concentración del soluto a través de la dentina, y el DX corresponde a la distancia sobre la que ocurre la difusión, vale decir, el espesor de la dentina, en el caso que nos ocupa.

Por lo tanto, según lo que acabamos de ver, el transporte será tanto mayor cuanto mayor sea el correspondiente coeficiente de difusión (por ejemplo, las endotoxinas bacterianas tienen una difusibilidad muy baja), cuanto mayor sea la superficie expuesta a la permeabilidad, cuanto mayores sean las concentraciones, y cuanto menor sea el espesor de la dentina.

El tercer mecanismo involucrado en el transporte es la iontoforesis, gracias al cual el flujo de solutos con carga puede verse acelerado cuando se aplica una corriente ⁶⁵

A modo de simple descripción mencionaremos seguidamente los

procedimientos de medida que nos son útiles para valorar las propiedades de barrera de una membrana, para conocer en definitiva su permeabilidad. Para ello se han establecido una serie de coeficientes que pasamos a señalar ⁶⁴. La conductancia hidráulica (L_p) mide la facilidad para desplazarse de una masa de líquido bajo un gradiente de presión hidrostática u osmótica.

Por su parte, los coeficientes de permeabilidad de solutos (P) miden la facilidad de los solutos para difundir, sin contar con los movimientos del fluido. Y, por último, el coeficiente de reflexión (s) no es más que una relación entre la permeabilidad del soluto y la del solvente, de manera que si su valor es 0 nos indica que la membrana no discrimina entre el soluto y, por ejemplo, el agua, y si su valor es de 1, en el otro extremo de su rango de valores, nos dice que la membrana no deja pasar al soluto, solo al agua.

La permeabilidad global de la dentina es directamente proporcional a la superficie total de la dentina expuesta. Resulta evidente que una restauración con filtraciones sobre una preparación de corona completa proporcionará mayor superficie para la difusión de productos bacterianos que una pequeña restauración oclusal⁶⁶. Las restauraciones que requieren una eliminación considerable y profunda de dentina, abren más túbulos de mayor tamaño e incrementan la rapidez de difusión de sustancias nocivas desde la superficie hasta la pulpa; de ahí la importancia del “grosor de dentina remanente”^{67,68}. La permeabilidad de la raíz es 10 a 20 veces menor que la de un espesor similar de dentina coronal⁶⁹

Pruebas recientes indican que la permeabilidad de la dentina no es constante tras la preparación de la cavidad. En perros, dicha permeabilidad descendió más de 75% en las primeras 6h después de tal preparación⁶⁶. Si bien no hubo correlaciones histológicas de un decremento en la permeabilidad, los perros en que se agotó el fibrinógeno plasmático no presentaron descenso en la permeabilidad de la dentina tras la preparación de la cavidad⁷⁰. Los autores conjeturaron que la irritación de los vasos sanguíneos pulpares ocasionada por la

preparación de la cavidad aumentó la fuga de proteínas plasmáticas de los vasos pulpares hacia los túbulos dentinarios, donde se absorben hacia la dentina y disminuyen la permeabilidad. Se requiere estudiar más a fondo este fenómeno, para verificar si ocurre en seres humanos.

El carácter de la superficie dentinaria también puede modificar la permeabilidad de la dentina. Son posibles dos extremos: los túbulos que están completamente abiertos, según se observan en dentina recién fracturada⁷¹ o grabada con ácido⁷² (permeabilidad aumentada), y los túbulos que se cierran anatómicamente⁷³ o con restos microcristalinos (permeabilidad reducida)⁷⁴

2.2.3.2. Presión pulpar.

Las concentraciones en el líquido intersticial en la dentina expuesta puede mantener niveles muy bajos. Mientras el índice del flujo (gasto) sanguíneo sea normal, la microcirculación es muy eficiente para eliminar sustancias que se difunden a través de la dentina hacia la cámara pulpar. Hay suficiente flujo sanguíneo a través de la pulpa cada minuto para reemplazar por completo entre 40 y 100% del volumen sanguíneo pulpar. Puesto que la sangre circunscrita a la vasculatura, que sólo constituye alrededor de 7% del volumen total⁷¹ el volumen sanguíneo es reemplazado cinco a catorce veces cada minuto.

En 1960 se desarrollaron las técnicas para la medición exacta de las presiones en el tejido pulpar^{72,73} Estos métodos implican la perforación cuidadosa a través del esmalte y la dentina, para puncionar la cámara pulpar. Hoy se cuenta con diversos métodos indirectos para medir la presión pulpar a través de la dentina intacta. Un grupo de investigadores calculó en 15cm H₂O la presión que se requería aplicar en una cámara cementada sobre la dentina de gato para evitar el movimiento exterior del líquido⁷³. Ciucchi et al., utilizando la misma técnica en seres humanos, comunicaron una presión pulpar normal de 14cm de H₂O (10.4mmHg), muy por debajo de la presión arterial sistémica pero cerca de la presión capilar pulpar⁷⁴. Las mediciones directas recientes de las presiones en el

líquido intersticial pulpar, mediante micropunción, han arrojado cifras de 6 a 10 mm de Hg. Sin embargo, se efectuaron en pulpas expuestas a la atmósfera

Diversos autores han medido el flujo sanguíneo pulpar utilizando muchas técnicas diferentes. Últimamente, Gazelius et al. informaron sobre el empleo de un flujómetro sanguíneo de Doppler con láser, que es bastante sensible para medir los cambios en el flujo sanguíneo pulpar en dientes humanos intactos⁷⁵. Este método ha comenzado a utilizarse en la investigación de la biología pulpar. El flujo sanguíneo en la pulpa desciende en proporción directa a cualquier aumento en la presión del tejido pulpar. Van Hassel⁷⁶, Stenvik et al.⁷⁷ y Tönder y Kvinnsland⁷⁸ informaron que la presión en el tejido pulpar se encontraba elevada en casos de pulpitis, pero que el aumento está circunscrito a regiones específicas de la pulpa, y es normal en zonas no inflamadas. Sin embargo, el decremento circunscrito en el flujo sanguíneo pulpar permite la acumulación de mediadores inflamatorios, lo cual, a su vez, difunde el aumento en la presión hística y reduce el flujo sanguíneo pulpar a un mayor volumen de pulpa, y así sucesivamente⁷⁶. El aumento en la presión del tejido pulpar produce un dolor sordo, vago, mal localizado, que difiere del dolor dentinario breve, agudo y bien circunscrito que se atribuye al movimiento del líquido en el interior de la dentina. Por esta causa, cuando se abre dientes con presión pulpar alta, el dolor suele desaparecer pronto al disminuir con rapidez la presión hística.

En perros anestesiados se vio como la infiltración de lidocaína al 2% con 1:100,000 de epinefrina producía una significativa reducción del flujo sanguíneo pulpar mientras que la infiltración de mepivacaina al 3% producía el efecto contrario, un aumento considerable del flujo sanguíneo⁷⁹. De este modo el tipo de anestésico utilizado durante la obturación va a influir de forma positiva o negativa en la presión intrapulpar.

2.2.3.3. Repercusiones clínicas.

Uno de los temas que últimamente han sido mas discutidos ha sido el dilema sobre qué hacer con el barrillo dentinario durante los procedimientos restauradores en los que intervienen fenómenos adhesivos. La presencia o no de este barrillo es decisiva en el mantenimiento de la permeabilidad dentinaria; así, su eliminación produce un aumento inmediato de la permeabilidad dentinaria⁷⁹; ésta también se ve aumentada por la modificación que del barrillo hacen determinados productos de diversos sistemas de unión dentina-resina. Por otra parte, el barrillo dentinario va a bloquear la entrada de gérmenes, situación que también se da con el barrillo producido durante la instrumentación endodóncica.

En estrecha relación con el punto que acabamos de tratar, se sitúa el tema de la adhesión dentinaria. Por un lado, algunos productos de los que tratan la dentina de manera previa al proceso de adhesión, desmineralizan parcialmente la dentina y aumentan la permeabilidad dentinaria, pero, por otro lado, los adhesivos dentinarios van a sellar los túbulos o a estenosarlos, de forma que, según la ecuación de Poiseuille-Hagen ya comentada, los cambios en el diámetro tubular van a modificar mucho la permeabilidad. Así, la presencia de fluido en la superficie de la dentina cuando preparamos una cavidad para obturarla, afecta los mecanismos de adhesión de algunos de los materiales empleados, disminuyendo por tanto su capacidad de sellado. Esto se refleja en clínica por la aparición de sensibilidad postoperatoria, tinción de los márgenes de la restauración y recidiva de caries.

La sensibilidad dentinaria es otro de los problemas en los que la permeabilidad dentinaria se ve implicada. En este sentido y en relación con los agentes de unión a dentina, se puede decir que cualquier agente que bloquee los túbulos, reduce el flujo de fluidos y disminuye la hipersensibilidad de la dentina. Por otra parte, se ha visto que la presión de los fluidos está relacionada con la génesis de potenciales eléctricos, los cuales podrían excitar, junto con el propio

volumen del fluido, a los neuroreceptores .⁸⁰

2.3. Adhesión

2.3.1. Concepto

Se define como el estado por el que dos superficies se mantienen juntas mediante fuerzas o energías interfaciales basadas en mecanismos químicos, mecánicos o ambos con la mediación de un adhesivo. El material que une dos superficies se denomina adhesivo y la superficie a adherir se denomina adherente o sustrato. Para que se produzca una buena adhesión tiene que existir una buena humectabilidad y un íntimo contacto entre las superficies a unir.

Existen dos mecanismos de unión:

- *Mecanismo mecánico*: consiste en el entremezclado del adhesivo solidificado en las irregularidades de la superficie del adherente. Da lugar a la adhesión mecánica, que puede ser macromecánica (irregularidades macroscópicas) y micromecánicas (irregularidades microscópicas).
- *Mecanismo químico*: explica la adhesión mediante la generación de enlaces químicos entre el adhesivo y adherente. Produce adhesión química. Los enlaces implicados pueden ser primarios o fuertes (iónicos y covalentes) y secundarios o débiles (uniones por puentes de hidrógeno, interacciones por dipolos, 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. Hoy en día el mecanismo de unión más

aceptado es el de retención micromecánica.

Existen diversos factores físicos que influyen en la adhesión. Estos factores son los fenómenos de superficie entre los que se encuentran la tensión superficial y la humectabilidad.

La humectación de la estructura dentaria no obtiene adhesiones intraorales duraderas debido que los sustratos principales (adherentes), el esmalte y la dentina, están hidratados, son hidrofílicos y son permeables al agua. Este tipo de adherentes precisan de un adhesivo hidrofílico e hidrolíticamente estable. Sin embargo, incluso a pesar de que la superficie sea secada inicialmente antes de la aplicación del adhesivo, se produce la difusión de agua en una o más capas que se juntan tanto al tejido como al adhesivo. El agua tiene muy baja fuerza de cizallamiento, por lo que la fuerza adhesiva resultante entre dos superficies perfectamente planas es insignificante⁸¹.

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

1. *Imprimación del adherente*: consiste en la aplicación de una sustancia química previa con la finalidad de hacer el sustrato más receptivo al adhesivo.
2. *Aplicación del adhesivo*: consiste en aplicar sobre la superficie adherente el adhesivo.

Estos pasos no tienen porqué darse siempre ni de forma claramente diferenciada. Pueden darse de forma simultánea o faltar alguno de ellos.

La adhesión verdadera ha sido el "Santo Grial" de todos los materiales de restauración durante muchas décadas. Para lograr una auténtica unión entre

los materiales y las estructuras dentarias se debe conseguir tres objetivos: conservar mucha más estructura sana del diente, retención óptima y evitar las microfiltraciones 81.

De este modo el adhesivo dentinario ideal debería conseguir lo siguiente(García Barbero, J 1997):

1. Adherir el composite a la dentina con una fuerza igual o mayor que la de un composite al esmalte grabado.
2. Alcanzar rápidamente (en pocos minutos) la máxima fuerza de adhesión para permitir las manipulaciones de acabado y pulido, así como el restablecimiento funcional post-operatorio del paciente en plazo de tiempo razonable.
3. Ser biocompatible. El agente que usemos para unir no debe inducir cambios tisulares⁸² (Camps et al,1997; Settembrini et al,1997).
4. Evitar la microfiltraciones.
5. Demostrar una estabilidad prolongada en el medio oral. El adhesivo debe resistir el envejecimiento que es producido por los cambios bruscos de temperatura, las cargas cíclicas que sufre la unión y que inducen fatiga, la solubilidad, la sorción de agua, etc.
6. Ser fácil de aplicar y mínimamente sensible a la técnica de colocación (Kanca,1997;Prati et al,1996).

A pesar de las mejoras tan espectaculares que han experimentado los adhesivos dentinarios y de que las investigaciones y la información de los fabricantes acerca de estos productos han aumentado considerablemente, las técnicas clínicas siguen siendo confusas.

Se han observado un crecimiento exponencial en el desarrollo de los materiales adhesivos y las técnicas a medida que nos adentramos en el siglo XXI. No se puede confiar, salvo en contadas excepciones, en un mecanismo adhesivo

como único valuarte de la retención, pero se puede decir que ya nos encontramos en la era de la odontología adhesiva y de la rama asociada con ésta: la odontología estética.

2.3. 2. Importancia del substrato adherente.

Según Van Meerbeek & Others (2002), el fenómeno de adhesión es esencialmente un proceso de remoción de minerales (calcio, fosfatos) e infiltración de monómeros resinosos in situ, con la finalidad de crear una traba mecánica entre el adhesivo y la estructura dental, sellar los túbulos dentinales y así mantener la homeostasis del medio interno del complejo dentino – pulpar.

Desde el punto de vista estructural, cuando hablamos de adhesión en odontología contemporánea (Técnicas directas), se hace referencia principalmente al esmalte y la dentina, por ser los substratos adherente que con mayor frecuencia se encuentran afectados (lesiones cariosas, fracturas, anomalías dentales, etc.), aunque también es posible adherir composite al cemento radicular.

Esta distinción entre los substratos adherentes es imperante, ya que uno de los factores requeridos para que se logre una adhesión efectiva entre dos superficies, es que ambos posean una composición homogénea, es obvio que el esmalte y la dentina son diferentes desde el punto de vista morfofisiológico, por lo tanto, el mecanismo de adhesión varía entre un substrato y el otro ⁸³

Adhesión a esmalte

La unión al esmalte grabado es uno de los procedimientos más usados y exitosos de la odontología y es parte rutinaria de la práctica odontológica moderna.

Cuando se aplica una solución ácida (ácido fosfórico, láctico, cítrico), sobre la superficie del esmalte, ésta es capaz de desmineralizar y disolver la

matriz inorgánica de los prismas o varillas adamantinas (unidad estructural del esmalte), creando poros, surcos y/o grietas micrométricas; además, la sustancia ácida aplicada limpia la superficie y aumenta la energía superficial ⁸⁴, facilitando que los microporos o surcos generados puedan ser mojados y penetrados por una resina de enlace (microtags de resina), la cual quedará retenida físico-mecánicamente en el interior de los mismos ⁸⁵.

Para mejorar la capacidad de los monómeros de humedecer la superficie y penetrar en las microporosidades debido a su mayor viscosidad comparada con la del esmalte, los sistemas adhesivos han incorporado resinas con y sin relleno que actúan como agentes intermediarios entre el esmalte y el composite.

Las uniones que se forman entre un adhesivo polimérico de baja viscosidad y una superficie de esmalte son fundamentalmente de tipo mecánico y dependen de la penetración de la resina en las irregularidades de la superficie del esmalte ⁸⁶.

Adhesión a dentina

La matriz de la dentina propiamente dicha está compuesta por fibras colágenas, hidroxiapatita, glicosaminoglúcidos, factores de crecimiento, proteínas osteogénicas, entre otros componentes. Aproximadamente el 50% del volumen de la dentina es mineral, 30% es colágeno tipo I y proteínas y el 20% agua. (3 Thajardane 2015). Esta matriz cuya composición y situación tridimensional varía dependiendo de la profundidad, juega un rol fundamental en los mecanismos de adhesión.

Anatómicamente, este substrato se divide en dentina superficial, que como su nombre indica es la dentina más cercana al límite amelodentinario, está constituida por menor cantidad de agua, menor proporción de túbulos y mayor porcentaje de colágeno, a diferencia, la dentina profunda posee mayor contenido

acuoso, mayor número de túbulos y menos porcentaje de colágeno, por lo tanto, se considera que la disposición y organización de la dentina varía de acuerdo a la región del diente y su proximidad al tejido pulpar. El porcentaje que ocupa la dentina intertubular en la zona amelodentinaria es del 96% y 12% en la cercanía de la pulpa dental, por otro lado, el área ocupada por los túbulos abiertos en la zona o límite esmalte – dentina es del 1 – 3%, mientras que cerca de la pulpa es del 22 - 25%.

Tomando en cuenta la morfología dentinal, se establece que los fenómenos adhesivos se generaran de manera idónea en la dentina superficial y media, porque en la dentina profunda (Dentina hidratada – saturada), el porcentaje agua – fibras colágenas son inversamente proporcionales, es decir, el contenido de agua aumenta a medida que la dentina es más profunda, mientras disminuye el porcentaje de fibras de colágeno, lo cual es contraproducente para lograr una adhesión efectiva, porque la unión micromecánica se produce con la red colágena, previa desmineralización⁸⁷. Estas variaciones en la estructura de la dentina y permeabilidad afectan al sellado⁵⁴⁻⁵⁶. La fuerza de adhesión inmediata en dentina profunda puede llegar a ser entre un 30-50% más baja que en dentina superficial^{55,56} dando lugar un aumento del riesgo de degradación hidrolítica de los componentes de la capa híbrida con el tiempo.

La adhesión a esmalte es bien conocida y reproducible con relativa facilidad, se explica mediante la creación o establecimiento de una traba mecánica entre el adhesivo y la estructura dental (Macrotags o resin tags), mientras que la adhesión a dentina, es un proceso dinámico, el cual es discutido y objeto de estudio en nuestros días. La heterogeneidad estructural, la presencia de fluido dentinal (humedad relativa), y la baja energía superficial son algunas de las particularidades que hace de este tejido un substrato adherente especial para los diferentes sistemas adhesivos.

Al comienzo del desarrollo de la odontología adhesiva se buscó una adhesión

química al calcio o a las fibras de colágena de la estructura dentaria. Hoy en día ha quedado demostrado que no se puede hablar de una adhesión química (Eliades et al,1990) sino de adhesión mecánica o, más concretamente, adhesión micromecánica(Nakabayashi et al,1991; Van Meerbeek et al, 1992).

La adhesión micromecánica a la dentina está basada en tres mecanismos (Gwinnett, 1993):

- 1) Adhesión mediante la infiltración de la dentina intertubular y la formación de la capa híbrida o zona de interdifusión.
- 2) Adhesión mediante la infiltración de los túbulos dentinarios y sus ramas laterales.
- 3) Adhesión superficial, por el contacto entre el adhesivo y el substrato dentinario.

Actualmente la adhesión a dentina se ha basado en la retención micromecánica proporcionada por la formación de la denominada capa híbrida (Nakabayashi et al, 1991) o zona de interdifusión (Van Meerbeek, 1992).

Este mecanismo consiste en la infiltración de un monómero adhesivo en la dentina descalcificada con las fibras de colágena expuestas que, tras polimerizar, queda entremezclado con la estructura dental desmineralizada (Nakabayashi et al, 1991). Es una unión micromecánica al tejido proteico (Gwinnett et al, 1993).

Una de la principales características de la capa híbrida es la resistencia al ataque ácido (Nakabayashi et al, 1991), lo que la convierte en una unión resistente a una hipotética microfiltración bacteriana y le da estabilidad a lo largo del tiempo.

La formación de una capa híbrida adecuada requiere que los péptidos dentinarios (incluidas las fibras de colágena) estén sin desnaturalizar para ello se necesita que el sistema adhesivo contenga resinas hidrofílicas e hidrofóbicas y un catalizador que permita la polimerización en presencia de agua y oxígeno

(Nakabayashi et al, 1991).

El grosor de la capa híbrida va a depender:

- Tipo de dentina (joven, vieja, esclerótica, afectada por caries o normal) y la profundidad.
- Tipo de lesión (cariosa o no). Sakoolnamarka y otros, en un estudio concluyeron que existía poca diferencia en la adhesión aunque parece ser que el grosor de la capa híbrida en las lesiones no cariosas es menor y puede afectar la longevidad de la adhesión.

Ciertos autores afirman que, aunque no existe correlación entre el grosor de la capa híbrida y la fuerza adhesiva, la no uniformidad o la ausencia de una capa híbrida podría conducir potencialmente a una fuerza adhesiva más pobre y aumentar la posibilidad de formación de gaps³⁶⁻³⁸.

La constitución de la capa híbrida no es el único mecanismo que proporciona adhesión. Otro mecanismo consiste en la infiltración por capilaridad de los túbulos dentinarios abiertos tras el grabado ácido por la resina, formando los tags de resina que ocluirían la luz tubular. Estas prolongaciones de resina son siempre mucho más largas que el grosor de infiltración en la dentina intertubular. Debido a la angostura y tortuosidad de los túbulos y a sus ramas laterales, ofrecen una retención mecánica (Chappell et al, 1994; Gwinnett, 1993). Los tags son una combinación de la resina y de la lámina limitante que cubre la pared tubular (Tittley et al, 1995).

El tercer mecanismo de unión al tejido dentinario, consiste en el contacto que se produce entre la resina, la capa de dentina parcialmente desmineralizada y el límite del frente de desmineralización. Este mecanismo constituye la adhesión superficial (Gwinnett et al, 1993). La retención la proporcionarían las irregularidades de la superficie y sería una unión mecánica al tejido mineral.

La infiltración de la dentina por el adhesivo, ya sea en la dentina intertubular como en el interior de la luz tubular, es responsable de un tercio del total de la adhesión. De este tercio, la mitad se basa en la infiltración de la dentina intertubular y la formación de la capa híbrida y la otra mitad en la penetración de la resina en los túbulos y la formación de los tags. Los dos tercios restantes se deben a la denominada adhesión superficial que está proporcionada por las interacciones físico-químicas del adhesivo con las irregularidades de la topografía dentinaria (Gwinnet et al 1993; Yoshiyama et al, 1995).

No se recomienda grabar la dentina igual que el esmalte, ya que los túbulos dentinarios llegan hasta la cámara pulpar y contienen líquido tisular; para lograr adhesión a dentina basta descalcificar la dentina intertubular hasta una profundidad de 1.5 mm.. La morfología de la dentina varía por zonas, así mismo la adhesión también es diferente en zonas de gran densidad tubular y en las zonas escleróticas.

Los adhesivos dentinales tienen dos formas de lograr microrretención, el primer método es removiendo el smear layer completamente y desmineralizando la superficie intacta y el segundo método usa el smear layer como sustrato de adhesión. Los sistemas de un solo paso se aplican sobre el smear layer incorporándolo en la capa híbrida .

Otra característica de la dentina es la capa de smear layer que se forma en la superficie dentinal después de la instrumentación la cual ocluye los túbulos disminuyendo su permeabilidad en un 86%. El smear layer se ha definido como "detritos calcificados resultantes de la instrumentación de la dentina, esmalte o cemento", el smear layer está compuesto por hidroxapatita, colágeno alterado y en la superficie colágeno desnaturalizado y su morfología está determinada por el tipo de instrumento utilizado y por la zona de la dentina donde es formado.

La penetración de los ácidos ocurre inicialmente a lo largo de los túbulos, la dentina peritubular más mineralizada es grabada más profundamente que la intertubular. La interacción de los agentes grabadores con la dentina está limitada por el efecto amortiguador de la hidroxiapatita y los componentes proteicos de la dentina: los agentes ácidos (ácidos fosfórico, maléico, nítrico o cítrico) remueven el smear layer, desmineralizan la superficie de la dentina, abren los túbulos dentinales e incrementan la microporosidad de la dentina intertubular.

Cuando se utiliza ácido sobre la dentina se ha encontrado que la presencia de cristales de hidroxiapatita puede estabilizar el colágeno y prevenir su desnaturalización y colapso. Algunos iones positivos como el calcio, hierro y aluminio que contienen algunos grabadores pueden estabilizar el colágeno y disminuir la profundidad de la desmineralización de la dentina. Para mejorar la resistencia mecánica de la interfase de unión se han introducido actualmente diversos materiales (sílice, silicatos, titanio,...), pero la mejor estrategia es la biomimética. Es decir, un material biocompatible (ej.: hidroxiapatita) y con propiedades similares al tejido que repara ⁸⁸

La matriz de dentina desmineralizada se ha descrito como fácilmente colapsable cuando se seca en exceso con aire después de lavar con agua, se reduce la permeabilidad y los adhesivos ven dificultada su infiltración. Los adhesivos actuales contienen como solvente acetona o etanol que son capaces de eliminar el agua desde la superficie de dentina y desde la malla colágena promoviendo la penetración de los monómeros a través de la red colágena ⁸⁹

2.3.3. Eficacia de la adhesión: fuerza de adhesión, microfiltración y *gap interfacial*.

Desde el punto de vista teórico, la adhesión consiste en un fenómeno de superficie referido a las fuerzas o energías entre los átomos de una interfase.

Desde el punto de vista práctico, la adhesión se entiende como el grado de unión existente entre dos superficies, hablándose de cantidad y calidad de la adhesión.

Hablar de cantidad de adhesión es sinónimo de cuantificar la unión midiendo la **fuerza de adhesión** que existe entre dos superficies y expresándola con un número. Esto se realiza en el laboratorio mediante los ensayos o pruebas de adhesión que, con los resultados obtenidos, pueden pronosticar la durabilidad de una restauración o la aplicabilidad de un tratamiento.

La adhesión en odontología se realiza en contacto con un medio acuoso. Por lo tanto, no basta con una unión fuerte, hay que asegurar un sellado hermético entre las dos superficies adheridas que evite la entrada de sustancias en la interfase y aparezca el fenómeno de la microfiltración. Es decir, la unión tiene que tener una interfase de calidad (InoKoshi et al,1996). La microfiltración es la entrada por capilaridad y difusión de sustancias inertes y biológicas en la interfase que separa dos superficies. El estudio de la microfiltración evalúa la calidad de la unión entre dos superficies.

La **microfiltración** marginal alrededor de las restauraciones dentales ha sido implicada en una variedad de condiciones clínicas como sensibilidad pos-operatoria, hipersensibilidad crónica, caries secundaria y patología pulpar. Ésta se define como el paso no detectable clínicamente de bacterias, fluidos, moléculas o iones entre una pared cavitaria y el material restaurativo (Kidd et al, 1976), ocasionando coloración y deterioro de los márgenes de la restauración, caries secundaria en la interfase diente-restauración, hipersensibilidad del diente restaurado y el desarrollo de patologías pulpares (Going et al, 1972). Se ha demostrado que factores como el grabado ácido o la capacidad irritativa de los materiales restaurativos juegan un menor papel como agentes causales del daño pulpar que la filtración de bacterias alrededor de una restauración con inadecuado sellado marginal ^{90, 91}

Existen unos factores o variables que influyen en que el adhesivo obtenga un valor de fuerza de adhesión inmediato y adecuado y consiga un sellado hermético. Estos factores son:

1. *Humectabilidad*: debe ser la mayor posible para conseguir un íntimo contacto entre las dos superficies a unir (pág 33 tesis). Para que esto se consiga, el adherente tiene que tener la máxima energía superficial y el adhesivo la mínima tensión superficial. Para aumentar la energía superficial del sustrato en muchas ocasiones se realizan tratamientos previos, como la aplicación de ácidos, disolventes orgánicos, etc.
2. *Viscosidad*: debe ser apropiada para ser capaz de fluir fácilmente por la superficie del adherente. Cuanto más fluido, más fácil será que el adhesivo entre en las zonas angostas y moje mejor la superficie. En este caso, la temperatura juega un papel destacado.
3. *Fraguado*: debe darse sin cambios dimensionales excesivos. Es decir, con nula expansión o contracción. Si el adhesivo al fraguar o endurecer se altera dimensionalmente, se inducirán tensiones en la interfase que pueden generar debilidad en la unión.
4. *Grosor de la capa de adhesivo*: es un factor importante. Un grosor excesivo puede producir una fuerza unión pobre. Esto es debido a que el adhesivo no tiene las mismas propiedades físicas de resistencia mecánica que los cuerpos que vayan a ser unidos, pudiéndose producir un fallo cohesivo del propio adhesivo. Igualmente, un grosor pequeño puede no ser suficiente para cubrir completamente las irregularidades del sustrato y, por lo tanto,

disminuir la superficie de adhesión y empeorar el resultado final.

5. *Rugosidad*: se debe conseguir una superficie irregular. Al aumentar la rugosidad de la superficie aumenta a su vez la superficie de adhesión y la retención mecánica. Por este motivo, en muchos procedimientos adhesivos se realiza un pretratamiento del sustrato adherente con agentes abrasivos o erosivos como ácidos o chorreado de partículas.

Durante la polimerización del material de relleno de las restauraciones de composite se produce una contracción lo que da lugar a la formación de un **gap interfacial** (separación) en los márgenes de la restauración^{36,92} (2,9 Maria 2013), el cual clínicamente puede aparecer teñido. El grado de contracción depende de la composición de la matriz de resina afectando en mayor o menor grado la integridad biomecánica y marginal del composite polimerizado en las cavidades dentales⁹² (2 Maria 2013). En estudios *in vitro* se ha visto como la tensión ocasionada por la contracción del composite es la causa de fallos adhesivos, deterioro marginal y como consecuencia de caries secundarias³⁷. Estas separaciones pueden ser del orden de las 21 – 22 μm , cuando no se ha hecho adhesión a dentina y de un décimo de este valor cuando se ha acondicionado la dentina; una reducción mayor se consigue además haciendo obturaciones por incrementos pequeños del material restaurador y usando materiales intermedios (liners) en las paredes de cavidad. Estos materiales por tener bajos módulos elásticos permiten que el estrés de polimerización del material restaurador se disipe en ellos, previniendo la formación de gaps. El tamaño de ese *gap* puede disminuir con el paso del tiempo por la expansión hidrosfórica que se genera al absorber agua la resina lo que hace aumentar el volumen de la restauración y de este modo compensa la contracción tras la polimerización^{93,94}

2.3.4. Técnica de grabado ácido

En 1955 Michael Buonocore realizó el primer avance significativo sobre la adhesión intraoral. Grabó el esmalte con ácidos y colocó material acrílico de restauración sobre las rugosidades micromecánicas de la superficie creada. El monómero de la resina acrílica mojaba la superficie grabada, se introducía en los defectos de grabado y originaba unas prolongaciones de resina. Uno de los ácidos acondicionadores de la superficie que usó, el ácido ortofosfórico, es el ácido que con más frecuencia se emplea en la actualidad para el grabado del esmalte y la dentina.

Para que se produzca la adhesión entre los materiales de restauración a base de resina y el esmalte, se requiere una suficiente cantidad de esmalte grabado para que se produzca una disolución y una microporosidad adecuada del mismo. Al contrario que en la superficie normal de esmalte no tratado, el esmalte grabado tiene una mayor energía superficial, lo que asegura que la resina moja rápidamente la superficie y penetra dentro de las microporosidades, se puede polimerizar para formar las prolongaciones de resina que producen la adhesión mecánica al esmalte. Estas prolongaciones penetran de 10 a 20 μm dentro de las porosidades del esmalte, pero sus longitudes dependen de si el tiempo de grabado del esmalte y el tiempo de irrigación son suficientes para producir un entramado adecuado de esmalte grabado y a la vez eliminar los restos de residuos de grabado que se depositan en la superficie acondicionada.

El agente de grabado de elección es el ácido fosfórico al 37% en forma de gel. El tiempo de aplicación puede variar dependiendo de la exposición previa de la superficie del diente a fluoruros. Los dientes con alto contenido de flúor (suministro de agua fluorada) o dientes temporales necesitan de un mayor tiempo de grabado. Normalmente el tiempo de grabado de los geles es de 15 segundos aproximadamente.

A inicio de los años 90 una serie de estudios de microscopía electrónica concluyeron que el ácido fosfórico (30 – 40%), como agente acondicionador de la dentina era agresivo, porque era capaz de desmineralizarla entre 7 – 16 micras y que luego el adhesivo no rellenaba u ocupaba toda la superficie tratada. Como respuesta a esta problemática y con el objetivo de disminuir la profundidad de desmineralización del tejido dentinal, se implementó el uso de ácido fosfórico a bajas concentraciones (10 – 20%) entre otros ácidos como el maléico, cítrico y nítrico, actualmente estos ácidos son poco utilizados debido a su pobre capacidad para acondicionar el esmalte.

Según Van Meerbeek & Others (1994), cuando se aplica ácido fosfórico (30 – 40%) directamente sobre la dentina durante más de 15 segundos este substrato se sobredesmineraliza, con ciertas excepciones (dentina esclerótica o hipermineralizada), por lo tanto, no se recomienda aplicar ácido fosfórico durante más de 15 segundos sobre la dentina. Ellos sugirieron que, como el esmalte aparentemente requiere un acondicionamiento más agresivo que la dentina, entonces primero se colocará el ácido fosfórico (30 – 40%) sobre el esmalte, con la finalidad de descontaminar, remover el barrillo que se genera durante la preparación cavitaria, crear microporosidades o grietas micrométricas, además de aumentar la energía superficial ⁹⁵⁻⁹⁷ 5 segundos más tarde, el agente acondicionador se aplicará sobre la dentina durante 15 segundos, para un tiempo total del acondicionamiento dental de 20 segundos, de esta manera se evitará en gran parte la desmineralización excesiva de la dentina y el colapso de la malla colágena, factores fundamentales para el establecimiento de la capa híbrida.

La aplicación de un ácido sobre la dentina provoca cambios morfológicos y químicos importantes debido a la disolución del componente mineral y a la acción del ácido sobre el componente orgánico. El ataque ácido comienza en la superficie de la dentina, progresa hacia el interior y es frenado por la disolución de los cristales de hidroxiapatita y por la atracción de fluido que hace

sobre sí el propio ácido debido a su hipertonidad. (Perdigão et al,1995).

La dentina peritubular y la dentina intertubular sufren cambios diferentes debido a las peculiaridades histológicas de cada una (Kinney et al,1995). Igualmente, los cambios morfológicos que tienen lugar dependen del tipo de agente ácido aplicado y del tiempo de exposición, aunque se puede distinguir unos cambios característicos en cualquier ataque ácido.

Al aplicar el ácido, el barrillo es rápidamente disuelto y la dentina comienza a desmineralizarse. Uno de los resultados más característicos tras el grabado es el ensanchamiento de los túbulos debido a la pérdida de la dentina peritubular(Perdigão y Swiff, et al 1994). El diámetro tubular aumenta en función del tiempo de exposición al ácido debido al ataque de la pared tubular, pero la distancia entre el centro de cada túbulo se mantiene siempre constante (Marshall et al, 1993; Marshall et al, 1995; Kinney et al, 1995).

La dentina intertubular adquiere otra disposición. Debido a la pérdida del contenido inorgánico, las fibras de colágena son expuestas y se puede observar la trama o la red de colágena perpendicular a los túbulos dentinarios (Perdigão ,1995). Debido a la pérdida del contenido cálcico, esta superficie incrementa su porosidad(Perdigão,1995; Elidades et al, 1997).

Otro fenómeno producido tras el grabado es el incremento de la rugosidad. Este aumento se debe a que se produce un ensanchamiento significativo de los túbulos dentinarios y erosión del componente mineral, lo que conduce a mayor irregularidad en la superficie (Elidades et al, 1997). Este incremento es solamente ultramicroscópico, del orden de los 100nm en la dentina intertubular (Elidadess et al, 1997).

Junto a los cambios físicos, la superficie grabada adquiere una conformación química diferente, que se traduce en cambios energéticos

superficiales. La exposición de las fibras de colágena conduce a una disminución de la energía superficial de la dentina (Elidades et al, 1997).

2.3.5. Composición química de los adhesivos dentinarios.

Los componentes de los adhesivos en general serían:

- a) *Acondicionador de la dentina:* es el mismo ácido que se utiliza para grabar el esmalte. El más utilizado es el ácido fosfórico al 37%. También son empleados otros como son el ácido cítrico que recomienda Nakabayashi, o el maleico. Actualmente algunos adhesivos ya llevan el ácido incorporado con la resina y, en este caso, hacen uso de ácidos como el nítrico o el salicílico. El ácido además de eliminar el barrillo dentinario, grabar la dentina y abrir los túbulos también aumenta la superficie de contacto entre el diente y la resina.

- b) *Resina hidrofílica:* las más utilizadas son HEMA (hidroxietilmetacrilato), 4-META (4-metacriloxietil trimetídico anhídrido) y PMDM (P-dimetacrilato pirometílico ácido). Existen muchas otras moléculas, como GPDM, PENTA, TEGMA, etc.

- c) *Resina hidrofóbica:* es una resina convencional, sin relleno, similar a que se utilizaba desde siempre en la técnica del grabado a esmalte. Está compuesta por resina BIS-GMA y/o UEDMA(uretano dimetacrilato). Estas resinas permiten la unión con el composite, ya que las resinas hidrofílicas y las hidrofóbicas se unen muy bien entre sí. Algunos adhesivos mezclan ambos

tipos de resinas en un solo componente simplificando de este modo la técnica clínica, son los llamados one step o de un solo paso.

- d) *Solventes*: facilitan la difusión de la resina por el entramado de colágeno, y van disueltos en un vehículo de transporte. Los más utilizados son el agua, la acetona y el etanol. Los adhesivos disueltos en acetona son los más indicados cuando optamos por la técnica de adhesión en húmedo. La acetona es el solvente más eficaz para vehiculizar la resina adhesiva. Esto permite trabajar sin desecar la dentina en ningún momento, pero hay que tener en cuenta que estos adhesivos pierden su fuerza de adhesión al ser aplicados sobre dentina seca. La dificultad radica en adivinar y controlar el grado óptimo de humedad de la dentina cavitaria, puesto que, si bien la desecación es fatal para estos adhesivos, un exceso de agua también produce patrones de adhesión imperfectos conocidos como, fenómeno de “sobremojado” u “overwet”. Además son muy volátiles, por lo cual, no es necesario aplicar demasiado aire con la jeringa para que se evapore el solvente. Por el contrario, los adhesivos disueltos en agua pueden compensar bastante el colapso de las fibras de colágenas. Están diseñados para ser aplicados en dentina seca o bastante seca. Los resultados obtenidos con ellos suelen ser más uniformes, aunque normalmente consiguen fuerzas de adhesión menores. No conviene aplicarlos sobre dentina muy húmeda, pues enseguida aparece el

fenómeno de sobremojado y la formación del glóbulos en el interior del adhesivo. El etanol actúa como un solvente de características intermedias entre el agua y la acetona. Los adhesivos vehiculizados con etanol pueden ser aplicados sobre dentina húmeda o seca sin que existan grandes diferencias de resultados.

- e) *Catalizadores:* aquí se incluyen los fotoiniciadores como la canforquinona, necesaria para los adhesivos fotopolimerizables o bien un complejo amino-peróxido cuando los adhesivos son de fraguado químico, es decir, autopolimerizables. La combinación de ambos permitirá que el fraguado sea de tipo dual(32 proyect). Los adhesivos fotopolimerizables son los más indicados para los casos habituales de operatoria con composite.

- f) *Relleno inorgánico:* son las micropartículas y nanopartículas que se le incorporan a los adhesivos para fortalecer la interfase y compensar la contracción de polimerización. Los adhesivos que no llevan relleno tiene una mayor mojabilidad, ya que al ser menos espesos pueden fluir mejor por la luz de los túbulos dentinarios y, sobre todo, entre las fibras de colágeno. Hay que resaltar que a mayor cantidad de relleno inorgánico, obtenemos más uniformidad de la capa de adhesivo y también mayor grosor, lo que le da más elasticidad amortiguadora de la contracción de polimerización, de las fuerzas de masticación y del

estrés residual en el interior del composite endurecido.

2.3.6. Sistemas adhesivos

Clasificación por generaciones⁹⁸

Los adhesivos dentales buscan sellar el diente y así prevenir la entrada de contaminantes, microorganismos del medio ambiente oral y disminuir el movimiento de fluidos como interfases.

En la década del los 50 Hagger inició la tecnología en agentes adhesivos para la unión de resinas a la estructura dental. Un producto comercial Sevriton Cavity Seal fue vendido junto con una resina de curado químico Sevitra. Kramer y Mc Lean en 1.952 encontraron que el DAG incrementaba la adhesión a la dentina porque al penetrar en la superficie se formaba una capa intermedia a la que denominaron Zona híbrida. En 1.955 Buonocore utilizó ácido Fosfórico al 85% x 30 segundos para lograr descalcificación ácida y observó que se incrementaba notablemente el área de superficie debido a la acción del grabado ácido exponiendo la estructura orgánica del esmalte.

El desarrollo de los sistemas actuales de adhesión a dentina y esmalte con resinas de fotocurado de baja viscosidad, fue posible gracias a los primeros sistemas de fotocurado con luz visible que se basaron en catalizadores de alfadiquetonamina.

Nakabayashi y cols. describieron los monómeros basados en 4-metacriloxietil trimetrilato anhídrico que contenían grupos químicos hidrofílicos e hidrofóbicos que pueden penetrar en la dentina grabada y polimerizar creando una capa transicional formada por diente y resina⁹⁹.

Evolución de los adhesivos :

Primera generación:

Producto comercial Cervident (SS White) adicionó un comonomero, activador superficial, metacrilato glicidil fenilglicina-N, a la resina BIS-GMA, para facilitar la quelación del calcio superficial. Se encontró que este sistema tenía pobre adhesión (3 MPa) y ninguna ventaja con respecto a microfiltración comparado con la resina sin relleno.

Segunda generación:

Fue desarrollada para uso clínico a comienzos de los 80's. La mayoría de estos materiales fueron ésteres halofosforados de resina sin relleno tales como Bisfenol A-glicidil Metacrilato (Bis-GMA) o Hidroxietil Metacrilato (HEMA). Se usó resina BIS-GMA con compuestos de fosfato polimerizables para promover la adhesión a componentes de Ca del sustrato mineralizado. El promedio de fuerza de adhesión a dentina de estos materiales fue de 2 a 7 Mpa.

Tercera generación:

Introdujo el acondicionamiento dentinario mediante un primer previamente a la colocación del agente adhesivo que remueve el smear layer. Entre los acondicionadores dentinarios empleados se tuvieron el oxalato férrico/ácido nítrico al 2.5% y N-fenilglicina (NPG) seguido por PMDM, el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) seguido por hidroxietilmetacrilato (HEMA) y glutaraldehido, y luego una resina sin relleno, ácido maléico y HEMA seguido por una resina adhesiva que contenía BIS-GMA y HEMA. El Prisma Universal Bond 3 (Caulk / Densply) fue diseñado para adherirse a los componentes orgánicos e inorgánicos de

la dentina y constituyó el único sistema de tercera generación que no removía el smear layer sino que penetraba a través de él incorporándolo en el adhesivo. Fuerza de adhesión a dentina entre 9 y 18 MPa.

Cuarta generación:

Se basa en el concepto propuesto por Nakabayashi: la difusión e impregnación de resina dentro del sustrato de la dentina parcialmente descalcificada seguida por polimerización creando una capa híbrida de resina reforzada. Esta capa híbrida es una mezcla ácido resistente de estructura dental y polimérica creando un compuesto resina / dentina⁴.

Se acondiciona la dentina y luego se aplica un sistema de resina multicomponente. Los primeros sistemas recomendaban el secado con aire de la dentina después del acondicionamiento, los adhesivos de cuarta generación se basan en la hidratación de la dentina como un parámetro crítico para la adhesión efectiva.

El acondicionamiento ácido desmineraliza superficialmente la dentina produciendo una superficie rica en fibras colágenas. El agua en la superficie ayuda a suspender las fibras de colágeno permitiendo espacio para la subsecuente penetración del primer. La desecación excesiva de la superficie dentinal causa el colapso de la microestructura y crea una barrera que impide la penetración completa del Primer Hidrofílico, la situación opuesta crea espacios vacíos resultantes de una separación entre las fases de los componentes del primer que llevan a una emulsión de polimerización de la capa adhesiva. El uso de rellenos crea un sistema que es radiopaco y en teoría exhibe menos contracción de polimerización en la capa adhesiva. El promedio de la fuerza de adhesión para estos sistemas es de 17 a 24 MPa.

La mayoría de las técnicas involucra el "grabado total" iniciado por Fusayama en 1.979, éste remueve la capa de Smear Layer, abre los túbulos dentinales, aumenta la permeabilidad dentinal y decalcifica la dentina peritubular e intertubular. La profundidad de la decalcificación está afectada por factores como el pH, la concentración, la viscosidad y el tiempo de aplicación del grabador.

Luego del grabado ácido se aplica un primer que contiene monómeros de resina hidrofílica. Las moléculas del primer como HEMA contienen dos grupos funcionales: un grupo hidrofóbico que tiene afinidad por la resina y un grupo hidrofílico con afinidad por la superficie dentinaria. El primer humecta y penetra la red colágena y aumenta la energía superficial. La resina sin relleno se aplica y penetra la otra resina imprimando, copolimerizando con el primer, para formar una capa entremezclada con resina y colágeno llamada zona de resina reforzada, capa de resina infiltrada o capa híbrida, descrita por Nakabayashi y col. en 1.982.

Quinta generación:

Estos sistemas combinan los pasos de imprimado y aplicación de resina adhesiva en una fórmula de un solo frasco. Su principio de acción es la hibridación de la dentina y el uso de la humedad residual para el efecto de penetración de la resina en la dentina, pueden requerir múltiples aplicaciones para una adhesión exitosa.

Estos adhesivos contienen la molécula PENTA la cual se supone graba parcialmente la dentina, por lo cual sólo se requiere de grabado del esmalte y no de grabado total.

Sexta generación: adhesivos de autograbado.

No se elimina smear layer. Se infiltra, se produce acondicionamiento de la

dentina a través del smear layer. Clasificación de los adhesivos contemporáneos

Es la clasificación más empleada en el medio científico – tecnológico se basa en la aparición cronológica del sistema adhesivo en el mercado odontológico, se considera que existen seis o siete generaciones , sin embargo esta clasificación no permite que los sistemas adhesivos sean categorizados con un criterio objetivo y científico.

Clasificación según el modo de aplicación.

Otra clasificación utilizada es la que hace referencia al número de pasos clínicos y constitución física del sistema adhesivo: multibotes o multicomponentes y monobotes o monocomponentes.

Van Meerbeek & Others (2000), propusieron un sistema de clasificación que se sustenta primordialmente en la estrategia o mecanismo de adhesión utilizado, resumiendo así la diversidad de sistemas que se encuentran en el mercado dental que son capaces de promover la adhesión dental:

- 1- Sistemas adhesivos convencionales.
- 2-Sistemas autograbadores.
- 3- Vidrios ionómeros.

1- Sistemas adhesivos convencionales

Según la clasificación de Van Meerbeek & Others (2000), a este apartado pertenecen los sistemas adhesivos que emplean la técnica de grabado total como mecanismo acondicionador de la estructura dental.

Con respecto al mecanismo de adhesión de estos sistemas, se resume de la siguiente manera: previo acondicionamiento de la superficie del esmalte (Ácido

ortofosfórico 35% - 15 seg. – lavado – eliminación del exceso de humedad), se aplica el adhesivo, éste gracias a su baja tensión superficial, pequeño ángulo de contacto, capacidad humectante y capilaridad penetra en las grietas micrométricas creadas por el ácido, formando así los macro – microtags de resina¹⁰⁰

La adhesión al esmalte, como se dijo con anterioridad es bien conocida y ha sido corroborada en múltiples estudios. Se ha comprobado que gracias a la composición homogénea del esmalte, tipo de superficie y alta energía superficial (después de la aplicación del agente acondicionador), es posible obtener altos valores de fuerza de adhesión, siendo estos valores siempre superiores a los obtenidos en dentina, debido a las características especiales de dicho substrato, por esta razón, siempre y cuando sea posible se debe preservar el esmalte dental durante la preparación cavitaria, aunque este socavado.

La adhesión a dentina con los sistemas adhesivos convencionales ocurre por mecanismos diferentes al comentado en el apartado anterior. Cuando se aplica ácido ortofosfórico 35% durante 15 segundos sobre la dentina, éste es capaz de eliminar el smear layer o barrillo dentinal que se produce durante la preparación cavitaria y desmineralizar entre 4 – 11 micras (en profundidad) la superficie dentinal expuesta, es decir, el agente acondicionador actúa eliminando parcialmente la hidroxiapatita que cubre las fibrillas de colágeno, dejándolas libres (disminuye el módulo de elasticidad, aumenta la flexibilidad y movilidad), estableciéndose lo que se denomina red colágena, una vez que ha sido lavada la superficie dental y se ha eliminado el ácido y el exceso de humedad, se aplica el primer y el adhesivo, por separado, si es un sistema multicomponente el que se está empleando para llevar a cabo la técnica adhesiva o se aplican simultáneamente, si se trata de un sistema monobote o monocomponente (en ambos casos se debe esperar el tiempo de imprimación estipulado: 10 segundos, aunque dependerá siempre de las indicaciones del fabricante).

El adhesivo se infiltrará en la red colágena descrita y una vez polimerizado

creará un sistema de interdigitación (traba micromecánica) entre ambos substratos adherentes, este fenómeno de imbricación entre el adhesivo, proteínas colágenas – no colágenas y el componente inorgánico de la dentina es lo que Nakabayashi y colaboradores en 1982 describieron como capa híbrida.

Morfológicamente la capa híbrida se divide en tres zonas:

a) Cuerpo principal: Es el área más extensa y superficial de la capa híbrida, la cual esta limitada periféricamente por el tejido dental (esmalte, dentina y/o cemento)

b) Zona tubular o de penetración transdental: Es el tag de resina propiamente dicho, éste puede llegar a medir aproximadamente entre 3 – 11 micras. Se reconoce como la unidad morfofuncional de la capa híbrida, porque es la zona de la cual depende principalmente la retención micromecánica del adhesivo, además de ser la encargada de sellar los túbulos dentinales e impedir la posterior contaminación del substrato dental; por lo tanto, esta zona guarda relación directa con el complejo dentino-pulpar.

c) Zona tubular – lateral o de penetración intradental: Se refiere a los microtags de resina que se forman lateralmente a los tags principales, son pequeñas ramificaciones de las interdigitaciones de resina de mayor diámetro. Según Van Meerbeek & Others (2002), la zona de penetración intradental es una versión micro de la capa híbrida.

Sistemas multicomponentes y monocomponentes.

Cuando se hace referencia a los sistemas multicomponentes o monocomponentes, en realidad se hace alusión a la presentación física del sistema, es decir, la cantidad de botes que constituye el sistema adhesivo.

Se denominan sistemas multicomponentes, aquellas presentaciones comerciales de adhesivo convencionales que están constituidos por más de un bote (Ej.:

Optibond (Total – Etch) – Kerr, Permagen – Ultradent, Permaquik – Ultradent, Scochtbond Multi - Purpose – 3M, Super Bond – Sun Medical).

En este caso los fabricantes presentan el primer en un bote separado del adhesivo, con la finalidad que el primer asegure la eficiente mojabilidad de las fibras de colágeno que han sido expuestas previamente por el agente acondicionador, transforme el estado hidrofílico de los tejidos en hidrofóbico y facilite la entrada del adhesivo entre los canales interfibrilares, una vez que se ha agotado el tiempo de imprimación se aplica el adhesivo que deberá rellenar todas las irregularidades creadas por el agente acondicionador y sellar todos los túbulos dentinarios que fueron abierto previamente por la sustancia desmineralizadora. La polimerización inicial y avanzada estabilizará la capa híbrida conformada, al igual que la copolimerización que se logre entre la resina compuesta y el adhesivo.

Entre las ventajas de los sistemas adhesivos multicomponentes se destacan:

- Técnica menos sensible: Permite la aplicación por separado del agente acondicionador, primer y adhesivo.
- Proveen adhesión efectiva a esmalte y dentina (in vivo / in vitro).
- Proporciona mayor fuerza de adhesión a esmalte, en comparación con los sistemas monocomponentes y autograbadores.
- Los sistemas multicomponentes, se reconoce como los adhesivos más eficaces.
- Permite la incorporación de nanopartículas que mejoran las propiedades físicas del sistema adhesivo, además, estas micropartículas actúan como un componente de absorción de estrés residual y reforzando la red colágena. (21)

Con respecto a las desventajas se sugiere que:

- Existe mayor riesgo de sobredesmineralizar la dentina.
- Necesidad de mayor tiempo clínico.
- Posibilidad de contaminar la estructura dental, porque se deben llevar a cabo varias fases clínicas (grabado ácido, lavado - enjuague, imprimación, aplicación

del adhesivo y fotopolimerización).

- Mayor riesgo de sobresecar el tejido dental o que exista exceso de humedad en el substrato adherente.

Los sistemas adhesivos monocomponente o monobotes, son aquellos donde el primer y el adhesivo se han incorporado a través de diferentes procesos químicos y físicos en un solo envase (Ej.: Excite – Vivadent, One Coat Bond – Coltene, One Step – Bisco, Prime Bond NT, Syntac Sprint – Vivadent, Syntac Single Component – Vivadent, Single Bond – 3M). Estos sistemas se sintetizaron con la finalidad de disminuir el número de pasos clínicos y el tiempo de trabajo. Sin embargo, según algunos estudios la ganancia de tiempo no es substancialmente importante, porque la diferencia de tiempo de trabajo total entre un sistema multibotes y otro monobote varía entre 10 – 60 segundos.

Ventajas de los sistemas monocomponentes:

- Reducción del tiempo de trabajo, en comparación con los sistemas multicomponentes, porque se elimina un paso clínico (aplicación del primer).
- Posibilidad de presentación en monodosis: Asegura la composición estable del adhesivo y la evaporación controlada del solvente.
- Ayuda a disminuir las infecciones cruzadas, porque permite realizar una aplicación más higiénica.
- Permite la incorporación de nanopartículas, que actúan mejorando las propiedades físicas del adhesivo, además refuerzan la red colágena y favorecen la disminución de fracturas adhesivas y cohesivas de la capa híbrida.

A pesar que los sistemas monocomponentes son adhesivos de alta tecnología, presentan algunas desventajas, entre las más importantes:

- El uso de estos sistemas adhesivos, no necesariamente implica la reducción del tiempo clínico, porque algunas presentaciones comerciales ameritan de la aplicación de varias capas (Prime Bond NT – Dentsply), con la finalidad de obtener una capa adhesiva con un grosor suficiente.
- Técnica más sensible, porque amerita la aplicación de varias capas.

- Existe mayor riesgo de crear una capa de adhesivo muy fina, que no posea la capacidad de absorción de estrés residual o que ocurra una polimerización incompleta debido a la inhibición por oxígeno.
- Estudios clínicos a largo plazo insuficientes.

2- Sistemas adhesivos autograbadores.

Los sistemas adhesivos autograbadores se basan en el uso de monómeros ácidos que acondicionan, imprimen y se adhieren al tejido dental.

Estos sistemas se comercializaron a principio de los años 90. Al inicio se emplearon solo como un sistema acondicionador de la dentina porque su capacidad de adhesión al esmalte era pobre. Hoy en día, se cuenta con formulaciones químicas que son capaces de actuar de manera efectiva tanto en esmalte como en la dentina (Xeno III – Dentsply).

La primera generación de sistemas autograbadores que se introdujeron en el mercado odontológico se utilizaban siguiendo dos pasos clínicos. El primero consistía en la aplicación de una sustancia acondicionadora sobre tejido dental (ácido cítrico, maléico, nítrico), no lavable que después de actuar durante 15 - 30 segundos se inactivaba y el segundo paso clínico consistía en la aplicación propiamente dicho del adhesivo (Ej.: Clearfil Liner Bond - Kuraray, Clearfil SE – Kuraray, Syntac – Vivadent, Optibond – Kerr, F2000 – 3M, Scotchbond 2 – 3M).

La segunda generación de adhesivos autograbadores son los denominados todo en uno, es decir, el agente acondicionador, el primer y el adhesivo se encuentran mezclados químico y físicamente en un solo bote o envase, por lo tanto desde el punto de vista clínico, amerita solo un paso, que consiste en la aplicación directa de una o múltiples capas del adhesivo sobre el tejido dental a tratar (Ej.: Ecth & Prime 3.0 – Degussa, One Up Bond – Tokuyama, Prompt L Pop 1, 2 – 3M / ESPE, Xeno III – Dentsply). (20, 30)

Aparte de la clasificación cronológica, estos sistemas adhesivos también han sido clasificados de acuerdo a la acidez de los compuestos que los constituyen, en moderados y fuertes (Moderado: Ph: +/- 2. Fuerte: Menor o igual a 1), cabe destacar que esta diferencia en el pH influye directamente en la capacidad de desmineralización del sistema adhesivo, es decir, a menor pH mayor será la capacidad de desmineralización del adhesivo.

El mecanismo de adhesión de los sistemas autograbadores, se basa en el fenómeno de hibridación dentinal al igual que los sistemas adhesivos convencionales, además de la modificación, transformación e inclusión del smear layer en la capa híbrida, con la diferencia que los tags de resinas que se logran obtener con el uso de los sistemas autograbadores son más cortos y de menor diámetro que los obtenidos con los sistemas convencionales y que las fibras de colágeno no son totalmente desprovistas de la hidroxiapatita que las cubre.

Según algunos estudios, los monómeros funcionales (grupos carboxílicos o fosfatos) de los sistemas autograbadores moderados (pH: +/- 2: Adhesivos 4 – Meta, Clearfil Liner Bond – Kuraray, F2000 – 3M, Imperva Bond – Shofu, One Up Bond F - Tokuyama), son capaces de interactuar molecularmente con la hidroxiapatita y establecer un enlace interatómico perdurable.

De acuerdo a Van Meerbeek & Others (2000), este mecanismo de adhesión menos agresivo que aquellos que utilizan la técnica de grabado ácido convencional, al parecer, permiten un sellado eficaz de los túbulos dentíales y márgenes cavitarios durante más tiempo (In vitro), porque gracias a la interacción química entre la hidroxiapatita y el monómero mejora significativamente la resistencia al proceso de degradación hidrolítica del adhesivo y asegura una posición estable del mismo.

Un aspecto importante a tomar en cuenta es el grosor de la capa del adhesivo

que se logra obtener después de aplicar un sistema autograbadador moderado, que es menor a la que se obtiene cuando se emplea un sistema adhesivo convencional. Según Blunck (2002), el grosor de la capa adhesiva es un factor secundario en los sistemas autograbadadores, porque su mecanismo de adhesión principal se basa en la disolución, transformación e incorporación del smear layer como parte funcional de la zona de hibridización dentinal y en la interacción molecular entre la hidroxiapatita remanente y el monómero adhesivo⁸⁸. Con la finalidad de aumentar el grosor de la capa híbrida algunos investigadores han propuesto la adición de nanopartículas a esta clase de adhesivos, aunque no existen muchos estudios al respecto.

Los sistemas adhesivos con pH menor o igual a 1 (Ej.: Prompt L Pop – 3M / ESPE, Non Rinse Conditioner & Prime Bond NT – Denstply), actúan de manera similar a los sistemas convencionales, es decir, cuando se aplica este tipo de sistema adhesivo, éste elimina casi totalmente la hidroxiapatita que recubre la fibrilla colágena, por lo tanto, se sugiere que no existe una reacción química entre la hidroxiapatita remanente y el monómero resinoso, en este caso, el fenómeno de adhesión ocurre porque el monómero ocupa el espacio creado por el agente acondicionador (microporosidades) y a través del sistema de resin tags (imbricación entre el adhesivo y el substrato adherente), se establece la traba mecánica.

Según Gordan & Others (1998), los sistemas autograbadadores no solamente simplifican la técnica clínica, sino que también disminuyen la sensibilidad de la técnica en comparación con los sistemas convencionales. Entre otras ventajas de estos sistemas se destacan:

- Desmineralización e infiltración de resina simultánea.
- Posibilidad de monodosis: Permite el control de la evaporación del solvente y así mantener la composición estable del adhesivo.
- Adecuada interacción monómero – colágeno.
- Efectivo desensibilizador dentinal.

- Menor importancia a la humedad dentinal.
- Disminuye el riesgo de las infecciones cruzadas.

Con respecto a las desventajas algunos investigadores citan:

- Insuficientes estudios (In vitro / In vivo) a largo plazo.
- La fuerza de adhesión que se logra en el esmalte es suficiente, pero es inferior a la que se obtiene con los sistemas adhesivos convencionales (técnica de grabado total), aunque éste es un tema controversial en la actualidad.

Grabado total – Sistemas auto grabadores

La técnica de grabado ácido total se basa en la aplicación de ácido ortofosfórico entre 30 – 40% sobre el esmalte y la dentina simultáneamente.

A inicio de los años 90 una serie de estudios de microscopía electrónica concluyeron que el ácido fosfórico (30 – 40%), como agente acondicionador de la dentina era agresivo, porque era capaz de desmineralizarla entre 7 – 16 micras y que luego el adhesivo no rellenaba u ocupaba toda la superficie tratada. Como respuesta a esta problemática y con el objetivo de disminuir la profundidad de desmineralización del tejido dentinal, se implementó el uso de ácido fosfórico a bajas concentraciones (10 – 20%) entre otros ácidos como el maléico, cítrico y nítrico, actualmente estos ácidos son poco utilizados debido a su pobre capacidad para acondicionar el esmalte.

Según Van Meerbeek & Others (1994), cuando se aplica ácido fosfórico (30 – 40%) directamente sobre la dentina durante más de 15 segundos este substrato se sobre desmineraliza, con ciertas excepciones (dentina esclerótica o hipermineralizada), por lo tanto, no se recomienda aplicar ácido fosfórico durante más de 15 segundos sobre la dentina. Ellos sugirieron que, como el esmalte aparentemente requiere un acondicionamiento más agresivo que la dentina, entonces primero se colocará el ácido fosfórico (30 – 40%) sobre el esmalte, con la finalidad de descontaminar, remover el barrillo que se genera durante la preparación cavitaria, crear microporosidades o grietas micrométricas, además de

aumentar la energía superficial, (1, 2, 3) 5 segundos más tarde, el agente acondicionador se aplicará sobre la dentina durante 15 segundos, para un tiempo total del acondicionamiento dental de 20 segundos, de esta manera se evitará en gran parte la desmineralización excesiva de la dentina y el colapso de la malla colágena, factores fundamentales para el establecimiento de la capa híbrida.

Es importante destacar, que cuando se utilice la técnica de grabado total + sistema adhesivo convencional, el ácido fosfórico se debe enjuagar antes de aplicar el adhesivo, a diferencia, cuando se emplea un sistema autograbador todo en uno, el paso clínico de lavado y enjuague del agente acondicionador se omite, porque éste, por lo general, se inactiva químicamente 15 – 30 segundos después de haber sido aplicado.

Con respecto a los sistemas autograbadores, se podría decir que su efectividad adhesiva es igual o inferior a los sistemas adhesivos convencionales, aunque no existen estudios a largo plazo que garanticen una adhesión duradera, principalmente sobre esmalte, por otra parte, se sugiere que con los sistemas autograbadores (Ej.: Xeno III - V- Dentsply, One Up Bond F - Tokuyama), se obtienen fuerzas de adhesión superiores en comparación con sistemas anteriores, aunque no existen estudios concluyentes al respecto.

Pashley & Others (1998), con la finalidad de mejorar la adhesión de estos sistemas al esmalte sugirieron la aplicación del adhesivo autograbador (todo en uno), primero sobre esmalte, seguido de la dentina y luego nuevamente sobre esmalte, de esta manera el esmalte podría ser acondicionado de la manera más idónea posible y se incrementaría la fuerza de adhesión.

Otra línea de adhesivos, familia de los sistemas autograbadores se patentaron hace algunos años, son los llamados adhesivos autograbadores para compómeros - Compomer Adhesives - (Ej.: Prompt L Pop for compomer – 3M / ESPE, F2000 Adhesive – 3M / ESPE, Compoglass - Vivadent), se introdujeron en el mercado

con la finalidad que se utilizaran como el sistema adhesivo de elección para los compómeros o resinas poliácidas. Inoue & Others (2000), realizaron varios estudios longitudinales in vivo donde utilizaron los adhesivos autograbadores para compómeros como medio de unión con el substrato dental. Ellos reportaron que a los tres meses el 92% de las cavidades obturadas se encontraban en condiciones óptimas, a los 6 meses más del 60% de las cavidades se habían filtrado, el 52% de las cavidades habían cambiado de color y el 72% de los pacientes refería sensibilidad al frío.

Concluyendo los sistemas adhesivos contemporáneos se podrían clasificar:

a) Grabado ácido previo:

- De tres pasos (tradicional): usa un *primers* que contiene monómero hidrofílicos y disolventes (el objetivo era desplazar el agua y preparar la matriz de colágeno para la infiltración de monómeros de resina hidrofóbicos libres de disolvente) ^{2,31,55}
- Dos pasos (simplificado): combina el *primers* hidrofílico y la resina hidrofóbica en una misma solución.

b) Autograbadores ³

- Dos pasos: se mezclan una gota de dos frascos.
- Un paso: monofrasco. También llamado actualmente *universales* ya que se utilizan para cualquier sustrato y no requieren grabado ácido.

Los adhesivos más utilizados actualmente por los odontólogos (por la simplicidad del modo de aplicación) son los de grabado ácido de dos pasos y los autograbadores universales o un solo paso aunque se ha visto que los sistemas de grabado ácido de tres pasos y los autograbadores de dos pasos se obtienen mejores resultados^{2,3,31}

Se sugiere que el fracaso de esta clase de adhesivos, se debe a su leve capacidad desmineralizante, que no es capaz de crear un patrón óptimo de retención y eliminar el smear layer, por lo tanto, a nivel del esmalte no se formaran los macrotags de resina y en la dentina debido a la obliteración parcial o total del

túbulo dentinal y la escasa hibridación del tejido no se logrará conformar una capa híbrida efectiva que garantice el sellado biológico y la homeostasis del complejo.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

Las hipótesis planteadas en este estudio son tres:

1. Si existe un deterioro del adhesivo basado en el efecto del fluido pulpar que moja la superficie adhesiva en el momento de aplicar el adhesivo (por la sobrehidratación) o después de la aplicación y polimerización (por la micropermeabilidad) debido a la presión pulpar mantenida en el tiempo.
2. Si un adhesivo hidrofóbico será capaz de sellar los túbulos dentinarios de forma más eficaz que un adhesivo hidrofílico.
3. Si la presencia del *gap interfacial* (brecha de unión) está relacionada con la microfiltración, siendo importante el método de evaluación.

Objetivos

- Evaluar el efecto de la presión pulpar inmediata y diferida en el sellado de cavidades clase V y en la fuerza de unión a dentina de tres sistemas adhesivos.
- Diferenciar el efecto de la presión pulpar inmediata y diferida.
- Determinar el efecto de la presión pulpar en el envejecimiento de la adhesión de varios sistemas adhesivos.
- Determinar la capacidad de sellado tubular de un adhesivo hidrófobo.
- Determinar un método de evaluación de la adaptación marginal y su relación con el sellado.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1. Diseño del estudio

Este trabajo consta de tres partes diferentes pero relacionadas entre sí.

En la primera parte de ese estudio se planteó la evaluación de la presión pulpar diferida y mantenida en la microfiltración y en la microtensión. Se trató de determinar si el deterioro del adhesivo se produce por la sobrehidratación proveniente de la pulpa en el momento de aplicar el adhesivo o si se produce por su efecto mantenido a lo largo del tiempo. Se analizaron tres sistemas adhesivos bajo condiciones de no presión, presión diferida (aplicada tras la aplicación del adhesivo) o mantenida en el momento de aplicar el adhesivo y a lo largo del tiempo.

En La segunda parte de este trabajo se valoró la capacidad de sellado de un sistema hidrofóbico. El experimento consistió en evidenciar el paso de fluido desde los túbulos dentinarios a la capa de adhesivo y determinar el grado de sellado tubular del adhesivo aplicado. Se utilizaron dos adhesivos comerciales y uno de laboratorio hidrofóbico.

En La tercera parte del estudio se plantea un método que permite medir el *gap interfacial* de muestra frescas sin procesamiento de laboratorio que pueda alterar la interfase de unión. Se evaluó el gap interfacial de dos sistemas adhesivos y su relación con el sellado.

4.2. Evaluación del efecto de la presión pulpar inmediata y diferida en la microfiltración de cavidades de clase V

4.2.1. Preparación de especímenes.



Se seleccionaron para este estudio 90 cordales humanos extraídos por diversos motivos. Es el sustrato ideal para el estudio de la adhesión debido a que es la superficie real sobre la que va a asentar todos los sistemas adhesivos (Nakabayashi y Pashley, 1998) Los criterios de selección consistieron en que no presentasen alteración de su integridad anatómica, que estuviesen libres de caries y que no tuviesen obturaciones de ningún tipo. Los cordales seleccionados se conservaron en agua destilada con una solución de cloramina T al 1% a una temperatura a 4°C. Se usaron antes de transcurrir 3 meses tras la extracción.

4.2.1.2. Sistemas adhesivos utilizados

Se utilizaron los mismos tres sistemas adhesivos tanto para estudio de microfiltración y permeabilidad. Uno de grabado total y dos auto grabadores. El adhesivo de grabado total de dosis única que se usó fue Prime&Bond NT™ (Figura 1) para el cual fue necesario acondicionar previamente la superficie dentinaria con ácido fosfórico al 37%. Los autograbadores elegidos fueron

Xeno V (Figura 2) y Fluoro Bond Shake One (Figura 3). Ambos adhesivos fueron aplicados siguiendo las instrucciones del fabricante (Tabla 1)



Figura 1: Prime&Bond NT



Figura 2: Xeno V



Figura 3: Fluoro Bond Shake One

Tabla 1: Sistemas adhesivos utilizados.

Adhesivo nº lote	Fabricante	Componentes	Forma de uso
<p><i>Prime & Bond Nt (P&B)</i> [0503000835]</p>	<p>Dentsply, Konstanz, Alemania</p>	<p>Condicionador : ácido ortofosfórico al 36%</p> <p>Adhesivo:Resinas de bimetacrilato y PENTA (monofosfato de pentaacrilato de bipentaeritritol), bióxido de silicona amorfo, fotoiniciadores, estabilizadores, fluoruro hidrolizado de cetilamina, acetona</p> <p>Composite: Spectrum TPH (microhíbrido)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Grabado de la superficie con ácido fosfórico al 37% durante 15 segundos. 2. Enjuague y secado ligero sin desecar. 3. Aplicar el adhesivo en la superficie que permanezca húmedo durante 20 segundos. 4. Secar con aire limpio de forma suave durante 5 segundos. 5. Polimerizar durante 10 segundos. 6. Colocar el composite inmediatamente. 6. Poner el composite y polimerizar 40 segundos
<p><i>Xeno V (XNV)</i> [0908001752]</p>	<p>Dentsply, Konstanz, Alemania</p>	<p>Adhesivo: Acrilato Bifuncionales • Acrilatos acídicos • Ester de ácido fosfórico funcionalizado • Acido acrílico • Agua • Butanol terciario • Iniciadores • Estabilizadores</p> <p>Composite: Spectrum TPH (microhíbrido)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Aplique una suficiente cantidad en toda la cavidad (cavidades muy grandes pueden requerir 2 o mas aplicaciones), mojóndola misma de manera uniforme. 2. Entonces agitar suavemente el adhesivo durante 20 segundos. 3. Evaporar el solvente aplicando gentilmente aire de la jeringa dental hasta que el adhesivo deje de moverse o al menos durante 5 segundos. Nota: La cavidad debe tener un aspecto brillante uniforme. Si no, aplicar Xeno V una vez mas y repetir el paso 3. La superficie no debe mostrar charcos o demasiado grosor. 4. Fotopolimerizar 20 segundos.
<p><i>Fluoro Bond Shake One (FLB)</i> [100387]</p>	<p>Shofu, Kyoto, Japon</p>	<p>Adhesivo Líquido A: vidrio aluminosilicato fluorado, relleno iónomero de vidrio, acetona agua, iniciador. Líquido B: HEMA, 4-AET, 4-AETA, UDMA, TEGMA. Composite: Beautifil (material restaurador de fotocurado q libera flúor)</p>	<p>Mezclar el líquido A y líquido B. Aplicar en la cavidad durante segundos. Secar y foto polimerizar durante 10 segundos</p>

4-AETA: 4-acryloyloxyethyl trimellitate anhydride. **4-AET:** 4-acryloyloxyethyl trimellitic acid. **Bis-GMA:** bisphenol A diglycidyl methacrylate. **HEMA:** 2-hydroxyethyl methacrylate. **4-META:** 4-methacryloyloxyethyl trimellitate anhydride. **PENTA:** dipentaerythritol pentaacrylate monophosphate. **Pyro-EMA:** tetramethacryloyloxyethyl pyrophosphate. **TEGMA:** triethylene glycol dimethacrylate. **UDMA:** urethane dimethacrylate or 1,6-dimethacryloyloxyethylcarbonyl-3,3',5-trimethylhexane. **PEM-F:** pentamethacryloyloxyethylcyclohexaphosphazene monofluoride. **BHT:** butylhydroxytoluene or butylated hydroxytoluene, or 2,6-di-(tert-butyl)-4-methylphenol (inhibitor). **CQ:** camphorquinone or camphoroquinone, or 1.7.7-trimethylbicyclo-[2,2,1]-hepta-2,3-dione (photo-initiator).

4.2.1.2. Preparación del dispositivo de presión pulpar.

La preparación del dispositivo de presión pulpar siguió el método descrito por Rosales et al, 2007 (Figura 4)

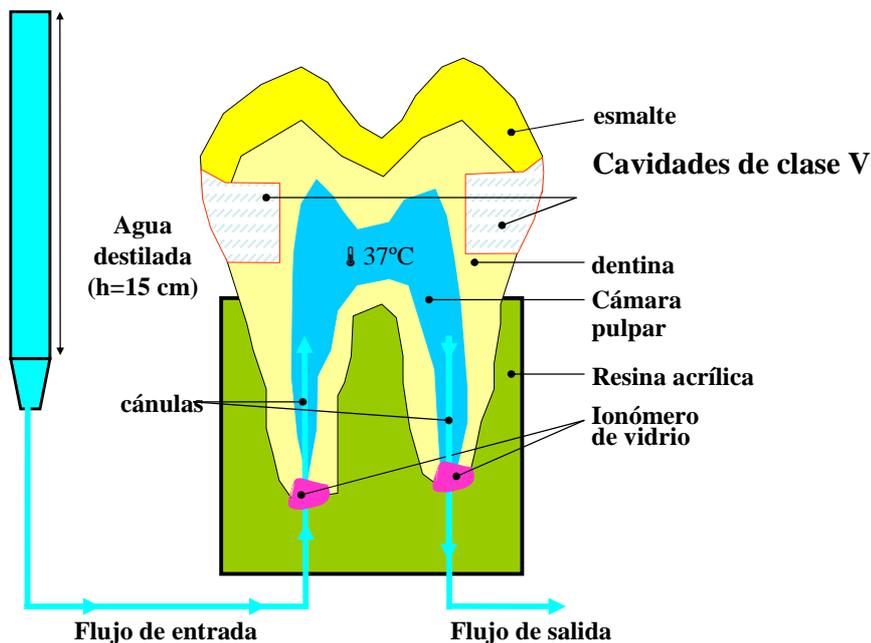


Figura 4 – Preparación del diente y del dispositivo de presión pulpar

Al grupo de especímenes que se le aplicó presión intrapulpar necesitaron de una preparación previa. Se les practicó una apiceptomía de 2mm a través de la cual se permeabilizaron los conductos radiculares con una lima K (#20) de endondoncia eliminando de esta manera restos del tejido pulpar. A continuación a cada cordal se les introdujo dos cánulas por las raíces con ionómero de fijándolas con cemento de monómero de vidrio. (Vitrebond, 3M, ST Paul, MN, USA) (Figura 5-6) Una cánula permitía la entrada de agua destilada y otra su salida. Dichas cánulas se fijaron a las raíces en un cilindro de resina acrílica autopolimerizable a un 1mm por debajo de la unión cemento-esmalte (Figura 6) A continuación a esas cánulas se le conectaron unas sondas por donde se hizo circular en el interior del diente suero fisiológico.

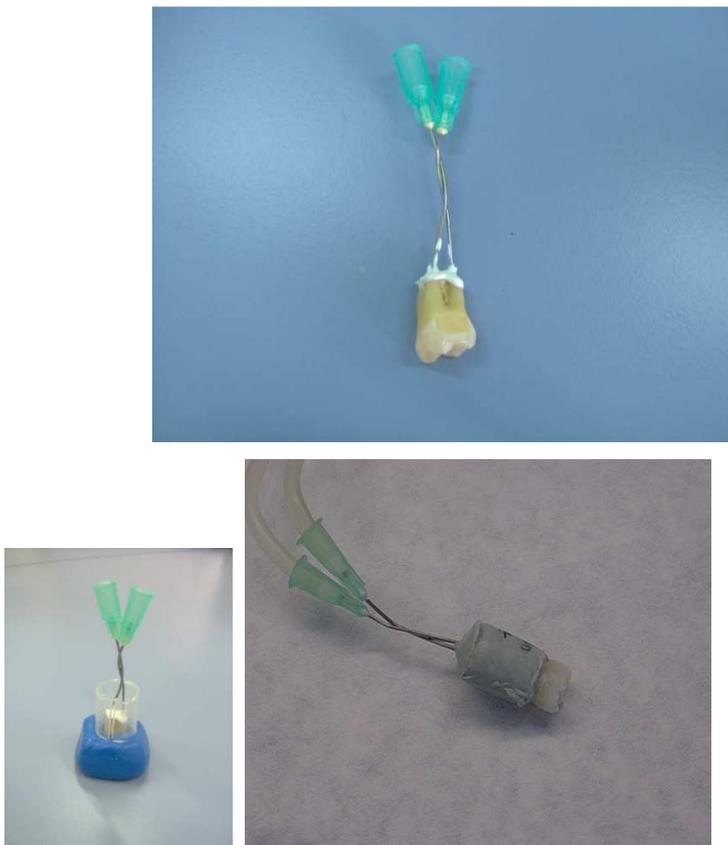


Figura 5-7: Molar con cánulas insertadas, cementadas y embutidas en resina acrílica

Como líquido de perfusión ha sido utilizados, por otros autores, suero salino taponado con fosfatos, agua y suero de caballo. El líquido presente en los conductillos dentinarios, es el mismo que se encuentra en el espacio intersticial de la pulpa dental, éste es producido por un exudado sanguíneo, cuya composición es similar a la del plasma. En el trabajo de protocolo experimental para el estudio de adhesión a dentina realizado por De Haro Gasquet y col., utilizaron un sustituto del plasma; ya que era la solución más adecuada para simular las condiciones del diente in vivo . Ya que no disponíamos de la solución como sustituto del plasma, procedimos a utilizar suero salino (0,90% cloruro de sodio) para simular la presión intrapulpar de los molares utilizados en el estudio.

La presión pulpar que se utilizó en el estudio fue la equivalente a una columna de 15 cm de agua destilada. El rango normal de presión pulpar en dientes no inflamados oscila entre una columna de 7-22 cm suero salino (Pashley DH, 1993) por lo tanto se eligió la de 15 cm (11,14 mm de Hg) porque fue la que Ciucchi et al (1995) determinó directamente en dientes humanos durante un procedimiento terapéutico con anestesia con vasoconstrictor.

En un principio, se aplicó una presión correspondiente a una columna de 30 cm de H₂O (22´06 mm Hg) durante 5 minutos para expulsar las burbujas de aire que pudieran quedar en el circuito y lavar la cámara pulpar. Después una de las sondas se introdujo en la columna de suero y la otra sonda se cerró con una llave de paso con lo que se mantuvo la presión deseada de manera constante (Figura 8)



Figura 8: Dispositivo de presión pulpar

3.3.3. Preparación de las cavidades.

Se realizaron dos cavidades clase V por cada diente, una por vestibular y la otra por lingual o palatino con pared gingival en cemento-dentina y pared oclusal en esmalte. Las cavidades se prepararon con una fresa de turbina (Kavo Super Torque 640, Alemania) troncocónica de diamante de corte 845 014 (Komet, Alemania) que se renovó cada 10 cavidades. Las dimensiones de las cavidades fueron: 3 mm de altura ocluso-gingival, 5 mm de anchura disto-mesial y 2 mm de profundidad. Al terminar la cavidad se realizó un bisel en el borde cavo de la pared oclusal en esmalte de 45° y de 1 mm de extensión.

3.3.4. Técnica adhesiva y colocación del composite.

Antes de colocar los adhesivos y el composite, los especímenes se dividieron en 18 grupos de estudio de 5 cordales cada uno.

Se utilizaron para este estudio tres sistemas adhesivos, uno de grabado

total y dos auto grabadores. El adhesivo de grabado total de dosis única que se usó fue Prime&Bond NT™ (Figura 1) para el cual fue necesario acondicionar previamente la superficie dentinaria con ácido fosfórico al 37%. Los autograbadores elegidos fueron Xeno V (Figura 2) y Fluoruro Bond (Figura 3). Ambos adhesivos fueron aplicados siguiendo las instrucciones del fabricante (Tabla 1).

El composite empleado en todas las obturaciones fue Spectrum (Figura 9). Un composite híbrido fotopolimerizable, que viene presentado en carpules, en color A2. La obturación se realizó en dos incrementos fotopolimerizados durante 40 segundos. El primer incremento cubrió la pared oclusal llegando hasta el ángulo de la pared gingivo-axial y el segundo incremento acabó obturar la cavidad. Se utilizó una lámpara de fotocurado Spectrum 800™. Para asegurar que la intensidad de la luz fue siempre superior a 350 mW/cm^2 , antes de comenzar se chequeó la lámpara con un radiómetro. Las obturaciones se terminaron puliéndolas con fresas de diamante de grano fino 8858 014 Komet y discos de pulir soft-lex (3M).



Figura 9: Composite híbrido Spectrum

En total se usaron 80 cordales para el estudio, 30 cordales para cada adhesivo (Prime&Bond , Xeno V). Esos 30 cordales se dividieron en 6 grupos de estudio para cada adhesivo en función al período de inmersión y presión pulpar. Los grupos fueron los siguientes:

Grupo 1: 24 horas de inmersión en agua destilada a 37°C en la estufa sin presión pulpar (**SP**)

Grupo 2: 24 horas de inmersión en agua destilada a 37°C en la estufa con presión pulpar.(CP)

Grupo 3: 24 horas de inmersión en agua destilada a 37°C en la estufa con presión pulpar diferida en el tiempo (PD)

Grupo 4: 1mes de inmersión en agua destilada a 37°C en la estufa sin presión pulpar (SP)

Grupo 5: 1 mes de inmersión en agua destilada a 37°C en la estufa con presión pulpar (CP)

Grupo 6: 1 mes de inmersión en agua destilada a 37 °C en la estufa con presión diferida en el tiempo (PD)

A aquellos grupos que se le aplicó presión diferida en el tiempo, durante la preparación de la cavidad, colocación del adhesivo y la obturación no tuvieron conectado el dispositivo de presión pulpar se le conectó después.

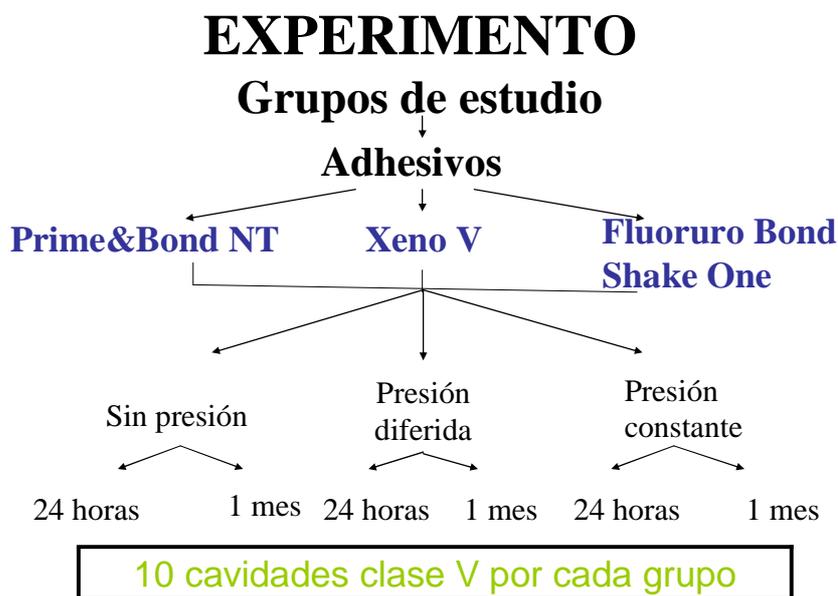


Figura 10- Esquema de los grupos de estudio

4.2.5. Ensayo de microfiltración y permeabilidad

Una vez que culminó el período de inmersión correspondiente a cada grupo, 24 horas y un mes, los especímenes fueron sacados de la estufa y preparados para someterlos al ensayo de microfiltración y permeabilidad.

A los grupos que tenían el dispositivo de presión pulpar se procedió a su retirada previamente. Se desconectaron las sondas, se cortaron las cánulas y el bloque de resina acrílica que las fijaba a las raíces (máquina de corte Acutton) (Figura 11) Las raíces se sellaron con óxido de cinc eugenol IRM y se esperó a que fraguara el cemento.



Figura 11: Desmontaje del dispositivo y corte de cánulas

A continuación se barnizaron en dos capas toda la superficie de los molares con un esmalte de uñas respetando las obturaciones y dejando margen de un 1mm alrededor (Figura 12). El sellado apical y el barnizado se realizó para evitar el paso de la solución colorante en el interior del diente y falsear los resultados. A las caras oclusales se le pegaron un trozo de cera de utilidad roja para fijar los especímenes a unos recipientes de plástico donde se vertió una solución acuosa de fucsina básica al 0.5% (Figura 13) Estos recipientes se introdujeron en las estufa a 37°C durante 24 horas en un ambiente de humedad relativa



Figura 12-14: Molares pincelados con esmalte de uñas; sumergidos en Fucsina; en la estufa

Trascurridas esas 24 horas y para evitar errores en la evaluación de la microfiltración, los molares se lavaron con abundante agua corriente, se cepillaron suavemente y se secaron con papel. Se dispusieron por grupos, de 5 dientes cada uno, en unos moldes de silicona con las obturaciones enfrentadas. Se incluyeron en resina acrílica transparente autopolimerizable INPLEX (Un frasco endurecedor Cod. RIT.101 y otro frasco acelerador Cod. RIT. 102) y se dejaron durante 24 horas hasta su completo fraguado (Figura 15-16)



Figura 15-16: Molares sacados de la fucsina e incluidos en bolques de resina.

Los bloques de resina con los molares incluidos se cortaron transversalmente con la máquina de corte Struers Accutton -50 en láminas de 900 μ m. De cada bloque se obtuvo una media de 5 láminas (Figura 17-18).



Figura 17-18: Bloques de resina cortados con la máquina de corte Struers Accuton

Finalmente se procedió a la evaluación de la microfiltración de manera cuantitativa anotando en una tabla las dimensiones de las paredes oclusal y gingival de las obturaciones y midiendo en milímetros la cantidad de colorante filtrado. Para este fin se utilizó un estereomicroscopio Olympus equipado con una escala milimétrica con divisiones de 0.1 mm (Carl-Zeis, Alemania). Tras la recogida de estos datos se evaluó la microfiltración mediante la cuantificación en grados del paso del colorante entre el composite y las paredes de la cavidad. (Figura 19-20)



Figura 19-20: Estereomicroscopio e imagen del molar con ambas obturaciones clase V.

Grado 0: sellado hermético (figura).



Grado 1: filtración ligera, paso del colorante no más de la mitad de la cavidad.

Grado 2: filtración intermedia, paso del colorante más de la mitad de la cavidad pero sin alcanzar la pared axial.

Grado 3: filtración masiva, paso del colorante hasta la pared axial.(fig).



Del mismo modo se evaluó la permeabilidad mediante la cuantificación en grados de la distancia recorrida del colorante a través de los túbulos dentinarios desde la pared axial de la obturación a la cámara pulpar.

Grado 0: permeabilidad negativa.

Grado 1: permeabilidad ligera, el colorante no alcanza la mitad de la distancia existente entre la pared axial de la obturación y la cámara pulpar.

Grado 2: permeabilidad intermedia, el colorante alcanza más de la mitad de la distancia existente entre la pared axial de la obturación y la cámara pulpar.

Grado 3: permeabilidad masiva, el colorante alcanza la pulpa.

4.4.2. Análisis estadístico

Las variables dependientes fueron la microfiltración y la permeabilidad dentinaria y los factores de análisis (variables independientes) fueron las condiciones de presión pulpar (SP, PD, PC), el tiempo de inmersión (24 h, 1 mes), el tipo de adhesivo (P&B, XNO, FLB) y la pared cavitaria (oclusal, gingival).

Las variables cuantitativas se sometieron a un estudio estadístico, adoptando como medida de tendencia central la media aritmética y, como medida de dispersión la desviación estándar. El nivel de significación aceptado fue de $P < 0.05$.

Para analizar la microfiltración se utilizó el test ANOVA multifactorial y el test de comparaciones múltiples Student-Neuman-Keuls . El test de T-Student se usó para evaluar la diferencia entre pared oclusal y gingival en cada grupo. La permeabilidad fue analizada aplicando el Test de proporciones de Fisher.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el paquete estadístico SPSS/PC+V 4.0 (SPSS INC, Chicago, IL, USA).

4.3. Evaluación del efecto de la presión pulpar inmediata y diferida en la microtensión.

4.3.1. Preparación de especímenes.

4.3.1.1. Selección de especímenes

Se seleccionaron 72 cordales humanos sanos con las mismas características y siguiendo los mismos criterios que para el ensayo de microfiltración.

4.3.1.2. Sistemas adhesivos utilizados

Se usaron los mismos adhesivos descritos en el ensayo de microfiltración (Prime&Bond, Xeno V y Fluoro Bond Shake One).(Tabla 1)

4.3.1.3. Preparación del dispositivo de presión pulpar

Se preparó de igual modo que en el ensayo de microfiltración que se ha detallado anteriormente (Figura 4)

4.3.1.4. Preparación de los especímenes

Se cortaron el tercio coronal y apical. Se pulieron a 400 grit las superficies (Figura 21)



Figura 21: Molar con el tercio coronal y apical cortado.

4.3.1.5. Técnica adhesiva y colocación del composite

Previamente a la colocación del adhesivo y composite los 72 especímenes se dividen en 18 grupos de 4 molares cada uno.

A la superficie pulida del tercio medio coronal se le aplicó el adhesivo siguiendo las instrucciones del fabricante, según el grupo, e incrementos de composite Spectrum (Figura 9) foto polimerizando cada uno durante 40 segundos hasta llegar a un grosor de 10 mm (Figura 22)



Figura 22: Molar con un grosor de 10mm de composite.

4.3.1.6. Ensayo de micro tensión

Una vez que culminó el período de inmersión correspondiente a cada grupo, 24 horas y un mes, los especímenes se sacaron de la estufa y se prepararon para someterlos al ensayo de microtensión.

A los grupos que tenían el dispositivo de presión pulpar se procedió a su retirada previamente. Se desconectaron las sondas, se cortaron las cánulas y el bloque de resina acrílica que las fijaba a las raíces (máquina de corte Accuton) (Figura 17). Las raíces se sellaron con óxido de cinc eugenol IRM y se esperó a que fraguara el cemento.

Las muestras preparadas fueron adheridas a un soporte de resina por la zona coronal mediante cera, posteriormente se procedió a cortar el diente por la zona apical que previamente fue pintada las zonas que poseían dentina con un rotulador indeleble, para desechar el esmalte periférico, mediante maquina de corte (Struers Accuton- 50, Copenhagen, Denmark Ser. No. 5010323) obteniendo varillas de secciones aproximadas de 1x1 mm de grosor (Figura 21).

Estas varillas fueron separadas de la muestra con micrótopo de tejidos duros (Struers Minitom, Copanhagen, Denmark) usándose sólo las varillas marcadas y desechándose las que contenían esmalte.

Seguidamente las muestras obtenidas fueron numeradas y medidas la interfase de unión con un calibre digital (Mitutoyo Digimac) para hallar el área de la misma.

A continuación estas muestras fueron pegadas individualmente por los extremos, respetando la interfase con pegamento de cianocrilato (Superglue Gel, Henkel Loctite, Dusseldorf, Germany) a la mordaza de compresión, en este caso se usó la célula de 500 Newtons, con el método de ensayo de tracción en la máquina de ensayo (Instron 3345, Ser no. 3345K3327, Canton, Mass)(Figura 22)

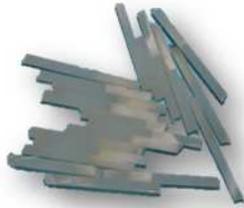


Figura 21 : Barritas de diente de un 1 mm²

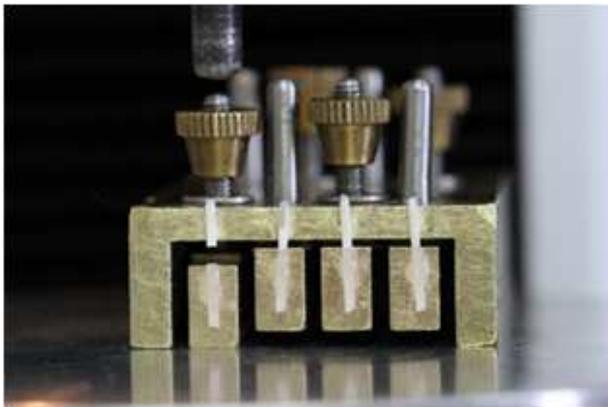


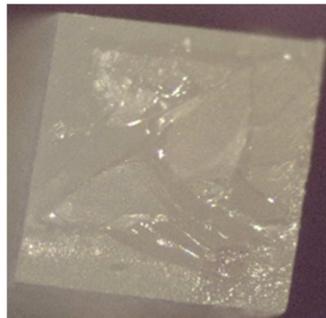
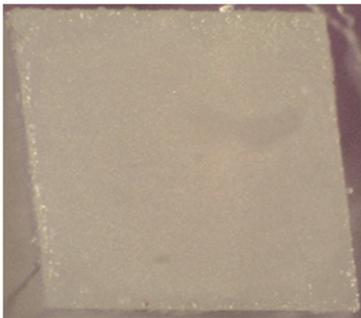
Figura 22 : Máquina Instron.

Los modos de fallo de fractura se examinaron mediante microscopía óptica (estereomicroscopio Olympus x50) Los modos de fallo de la fractura de las interfaces fueron clasificadas en 3 tipos:

1. Fallo adhesivo (A)
2. Fallo cohesivo (C)
3. Fallo mixto (M).

(fallo en la capa de adhesivo)

(fallo en la capa de composite)



4.3.2. Análisis estadístico

En el análisis estadístico se realizó una ANOVA multivariante y test de comparación de media (test de T-Student) ($p < 0.05$)

El análisis estadístico de los datos y la programación han sido realizados con el paquete estadístico SPSS/PC+V 4.0 (SPSS INC, Chicago, IL, USA).

4.4. Estudio de la capacidad de sellado tubular de un adhesivo hidrófobo con microscopía con focal láser.

4.4.1. Preparación de especímenes.

Se utilizaron 9 terceros molares usados antes de los 3 meses desde su

exodoncia, conservados en una solución de Cloramina T a 4°C

Se les cortó el tercio coronal, quedando en dentina superficial y el tercio apical (Figura 24-25) La dentina se pulió a 800 grit. Se amplió el diámetro de dos conductos con una fresa montada en una turbina y se desinfectó con hipoclorito de sodio. Se les introdujo una aguja por cada conducto (Figura 24), estableciendo un circuito de entrada y salida, y las sellamos con cemento de ionómero de vidrio (Ketac Cem®, 3M ESPE). Se incluyeron los dientes en bloques de resina (Figura 26)

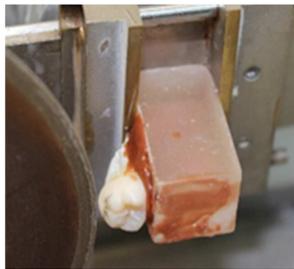


Figura 24



Figura 25



Figura 26

Se prepara el dispositivo de presión pulpar (Figura 8) descrito anteriormente con la diferencia de que el fluido se marca con fluoresceína (Kraber, Ellerbek, Alemania) a una concentración del 5% (Figura 23) Este dispositivo se activa en todos los especímenes durante 24 horas después de terminar la restauración para asegurar que fluido circule a través de los tubulos dentinarios. Durante ese periodo de tiempo se introduce en la estufa a 37 °C (Figura 24)



Figura 27 : Fluoresceína



Figura 28: Dispositivo en estufa

4.4.2. Sistemas adhesivos utilizados.

Los adhesivos que se usaron fueron un autograbador I Bond®, uno de grabado ácido Prime & Bond XP® y un adhesivo grabado + experimental con etanol (Tabla 2)

Tabla 2: sistemas adhesivos utilizados

Adhesivo y fabricante	Composición	Modo de aplicación
Prime&Bond XP (grabado ácido total de un paso) DENTSPLY De Trey, Konstnaz, Alemania	Dimetacrilato modificado con ácido carboxílico (resina TCB) • Ácido fosfórico modificado con acrilato de resina (PENTA) • Urethane dimethacrylate (UDMA) • Trietileneglicol dimetacrilato (TEGDMA) • 2-Hidroxietilmetacrilato (HEMA) • Butylated benzenediol (estabiizador) • Etil-4(dimetilamino)benzoato • Canforoquinona • Sílica amorfa funcionalizada • Butanol terciario Indicaciones	Grabado ácido con ácido ortofosfórico al 37% (Técnica descrita anteriormente) Aplicar el adhesivo, secar y polimerizar 10 segundos
I-Bond (Autograbador de un paso o universal) HERAEUS Kulzer, Hanau, Alemania	UDMA, 4-META, glutaraldehido, acetona, agua, foto-iniciadores, estabilizadores	Aplicar, secar y polimerizar 10 segundos.
Adhesivo grabado ácido +experimental con etanol	Etanol al 25,50,70,90% Glutaraldehido 2,5 buffer neutro	Grabado 15 sec. ácido ortofosfórico de laboratorio al 10% Lavado con abundante agua destilada 10 sec. Fijación con glutaraldehido 2,5 buffer neutro 60 sec. Lavado con abundante agua destilada 10 sec. Lavado con etanol 50% 20 sec. Lavado con etanol 70% 20 sec. Lavado con etanol 90% 20 sec. Lavado con etanol absoluto 20 sec. Aplicación adhesivo + etanol (50%) 20 sec. Aplicación adhesivo + etanol (25%) 20 sec. Aplicación adhesivo 30 sec. evaporación con suave con aire 10 sec. Fotopolimerización 15 sec.

El adhesivo antes de aplicarlo, según las recomendaciones del fabricante, se marca con Isotiocianato de Rodamina B (Merck, Darmstadt, Alemania) a una concentración aproximadamente de 0.1% (Figura 26)



Figura 29: Rodamina

Se le aplica una capa de composite Spectrum (Dentsply, Konstanz, Alemania). Los molares restaurados se sumergen en agua a 37°C durante 24 horas. Se le deja activo el circuito de presión pulpar durante ese período (24 horas) de inmersión.

4.3.3. Microscopia con focal láser.

Las cánulas apicales son retiradas y los especímenes incluidos en bolques de resina acrílica. De esos especímenes se obtuvieron tres cortes en sentido buco lingual de 1 mm de espesor mediante una máquina de corte (en total 9 cortes [18 cavidades] por adhesivo). Los cortes son pulidos con papel de lija (P4000) y montados en un portaobjetos.

La interfase entre adhesivo-dentina de la pared axial de la cavidad fue examinada usando a Leica TCS-SP2-AOBS CLSM (Leica, Wetzlar, Alemania) equipado con dos láser (láser de Argón a 488 nm y otro de Helio-Neón a 543 NM). Las imágenes se obtuvieron con un objetivos de inmersión de 100x y otro

ocular 10x. (Figura 30)



Figura 30: Microscopio confocal laser Leica.

Las imágenes fluorescentes son grabadas, digitalizadas y procesadas usando el programa Confocal de Leica. La distribución de la rodamina (Láser de Argón) nos revela la morfología de la infiltración destinada del adhesivo. Y la distribución de la fluoresceína (Láser de Helio-Neón) muestra la penetración del fluido pulpar en la capa híbrida y del adhesivo (micro permeabilidad de capa de adhesión).

Los datos obtenidos de las imágenes fueron:

- Espesor de la capa híbrida y adhesiva (μm)
- Porcentaje de casos con infiltración de la capa híbrida por el fluido pulpar y porcentaje de infiltración de la capa adhesiva.
- Túbulos expuestos ($n/\mu\text{m}$)
- Túbulos ocupados ($n/\mu\text{m}$)
- Porcentaje de túbulos ocupados
- Longitud del tubo ocupado (μm)

4.3.4. Estadística.

Los datos de micro permeabilidad se analizaron con el Test de ANOVA multifactorial, siendo la presión pulpar y el material las variables independientes. Las múltiples comparaciones se realizó con el Test Newman Keuls . Los datos no paramétricos de micro permeabilidad son comparados con el Test exacto de Fisher y para valorar la penetración dentinaria. $p < 0.05$ fue el nivel de significación estadística

4.5. Metodología para la evaluación del gap interfacial mediante microscopia de luz blanca

4.5.1. Descripción del método.

Se usaron 10 terceros molares sanos. Se dividieron en dos grupos de 5 dientes cada uno en función del adhesivo utilizado.

Los adhesivos utilizados fueron uno de grabado ácido previo XP Bond (Dentsply; Konstanz, Germany) y otro auto grabador Xeno V (Dentsply). El material restaurador que se usó fue un composite híbrido Spectrum TPH (Dentsply). Los materiales se usaron según las instrucciones del fabricante (Tabla 3)

Adhesivo Tipo Nº de lote	Fabricante	Composición	Forma de uso
<p>XP Bond [050300420] Grabado ácido total (XPB)</p>	<p>Dentsply (Konstanz, Alemania)</p>	<p>El ácido carboxílico modificado con dimetacrilato (resina de TCB)</p> <ul style="list-style-type: none"> • El ácido fosfórico modificado con resina acrílica (PENTA) • Uretano dimetacrilato (UDMA) • Trietilenglicol dimetacrilato (TEGDMA) • 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA) • Benzodiazol de butilo (estabiizador) • Etil-4-dimetilaminobenzoato. • Canforquinona • Silice amorfo funcionalizado • t-butanol <p>Composite: Spectrum TPH (microhibrido)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Acondicionamiento ácido ortofosforico al 36% (Procedimiento de grabado total) Aplicar el gel comenzando por el margen de esmalte y extendiéndolo a la dentina durante 15 segundos Retirar el gel y lavar la superficie durante al menos 15 segundos. Elimine el exceso de agua mediante un gentil chorro de aire. No disecar 2 .Mojar uniformemente toda la superficie de la cavidad con XP BOND. Evite „lagunas“. 3. Dejar reposar durante 20 segundos. 4. Evaporar el solvente aplicando un suave chorro de aire al menos durante 5 segundos. La superficie cavitaria debe lucir uniformemente brillante. 5. Polimerice al menos 10 segundos 6. Inmediatamente coloque el material de restauración sobre XP BOND polimerizado.
<p>Xeno V [0703001239] Autograbador (XNO)</p>	<p>Dentsply (Konstanz, Alemania)</p>	<p>Adhesivo: Acrilato Bifuncionales</p> <ul style="list-style-type: none"> • Acrilatos acídicos • Ester de ácido fosfórico funcionalizado • Acido acrílico • Agua • Butanol terciario • Iniciadores • Estabilizadores <p>Composite: Spectrum TPH (microhibrido)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Aplique una suficiente cantidad en toda la cavidad (cavidades muy grandes pueden requerir 2 o mas aplicaciones), mojando la misma de manera uniforme. 2. Entonces agitar suavemente el adhesivo durante 20 segundos. 3. Evaporar el solvente aplicando gentilmente aire de la jeringa dental hasta que el adhesivo deje de moverse o al menos durante 5 segundos. Nota: La cavidad debe tener un aspecto brillante uniforme. Si no, aplicar Xeno V una vez mas y repetir el paso 3. La superficie no debe mostrar charcos o demasiado grosor 4. Fotopolimerizar 20 segundos.

4.5.2. Evaluación del gap interfacial de dos sistemas adhesivos.

A los molares se les hizo unos cortes mediodistal de unos 2mm de espesor y se seleccionaron para el estudio los dos cortes centrales. A cada corte se le realizó dos cavidades cilíndricas (de 1,5 mm de diámetro) con una fresa redonda de diamante con abundante irrigación. De ese modo se obtuvo cuatro cavidades por cada molar, 20 cavidades por cada grupo y cada cavidad se observó por ambas caras por lo tanto se analizaron 40 cavidades en total. Dichas cavidades fueron obturadas con el composite en un único incremento. Después esos cortes se pulieron con papel de lija incrementando el grosor de grano (500, 800, 1200, 4000)

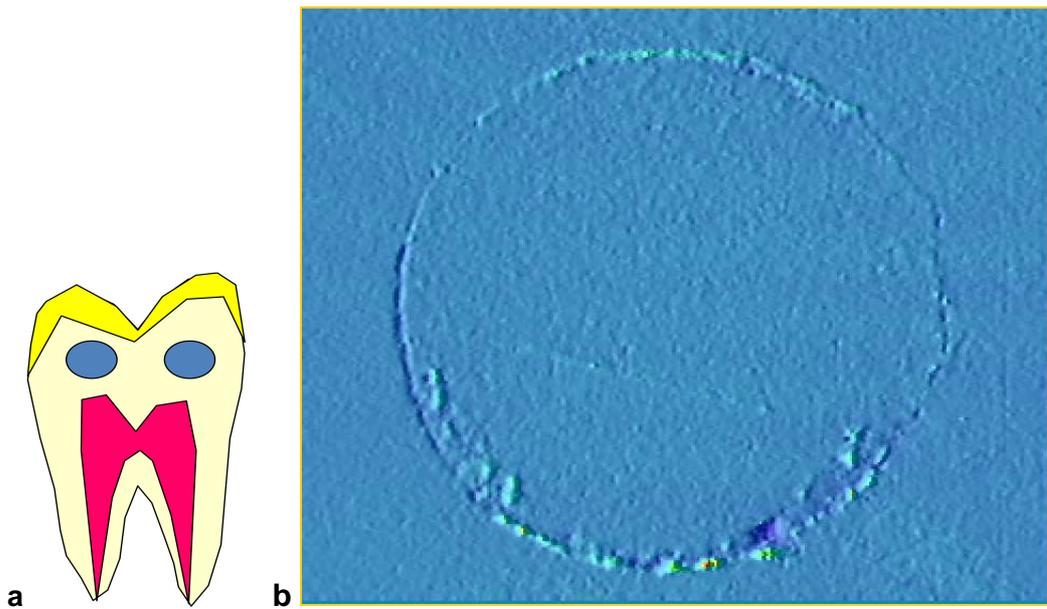


Figura 31: a. Corte del espécimen con las cavidades cilíndricas
b. Cavidad observada con microscopía confocal de luz blanca



Se evaluó el gap interfacial en las muestras frescas sin procesar con el microscopio confocal de luz blanca (Plμ Sensofar-Tech, Nikon) midiendo la longitud (perímetro) y anchura del gap inicialmente y a las 24 horas. Los datos se expresaron en micras.(Figura 32-33)

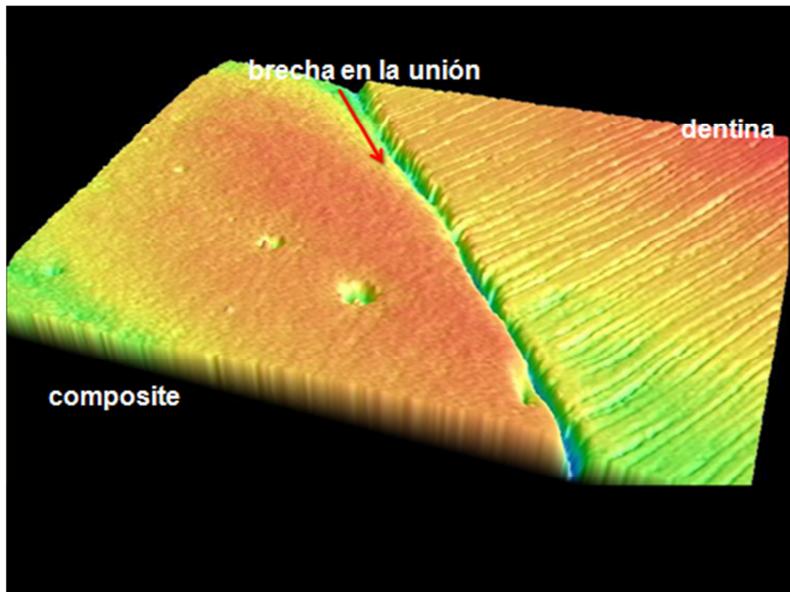


Figura 32: Imagen confocal del gap interfacial (500X)

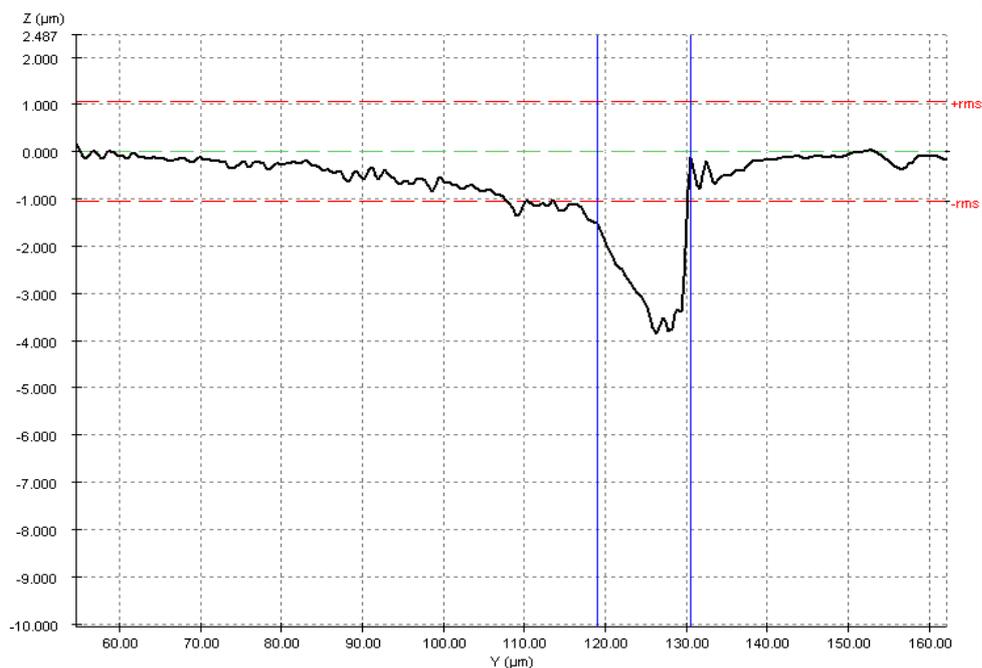


Figura 33: silueta del gap interfacial y determinación de la anchura del gap (distancia entre la línea vertical azul)

4.5.3. Ensayo de microfiltración de los sistemas adhesivos.

Para este ensayo se utilizaron 10 cordales. Se dividieron en dos grupos de 5 molares cada uno en función del adhesivo utilizado. Los adhesivos (XP Bond y Xeno V) y el material restaurador (Spectrum TDH) fue el mismo (Tabla 3). Se realizaron dos cavidades de clase V en cada molar de 3x2x2 mm de profundidad y un bisel de 1mm en el esmalte de 45 grados y se obturó según las instrucciones del fabricante. El composite se puso en dos incrementos. Se mantuvieron 24 h en agua a 37°C. Después se le sellaron las raíces con ionómero de vidrio y se le aplicaron dos capas de barniz de uñas respetando un 1mm alrededor de la restauración (Figura 12) A continuación se sumergieron en una solución de fucsina básica al 0.5% durante 24h (Figura 13) y se lavaron 5 minutos con agua destilada. Se incluyeron los molares en resina acrílica (Figura 15—16) y se obtuvieron tres cortes en sentido buco lingual de un 1mm de grosor

de cada espécimen (15 cortes {20 cavidades} por cada adhesivo). Esos cortes fueron codificados y examinados en el microscopio (Figura 17-20). La penetración del colorante en la interfase se cuantificó en micras.

4.5.4. Estadística.

Se ha utilizado el ANOVA multifactorial (el adhesivo utilizado como variable independiente; tamaño del gap y microfiltración como factores de análisis) y para múltiples comparaciones el Test Newman Keuls. El Test T-Student se usó para comparar la penetración del colorante (micro permeabilidad) entre la pared oclusal y gingival. El Test de Pearson se utilizó para establecer la correlación entre variables. $p < 0.05$ fue el nivel de significación en todo el estudio.

5. RESULTADOS

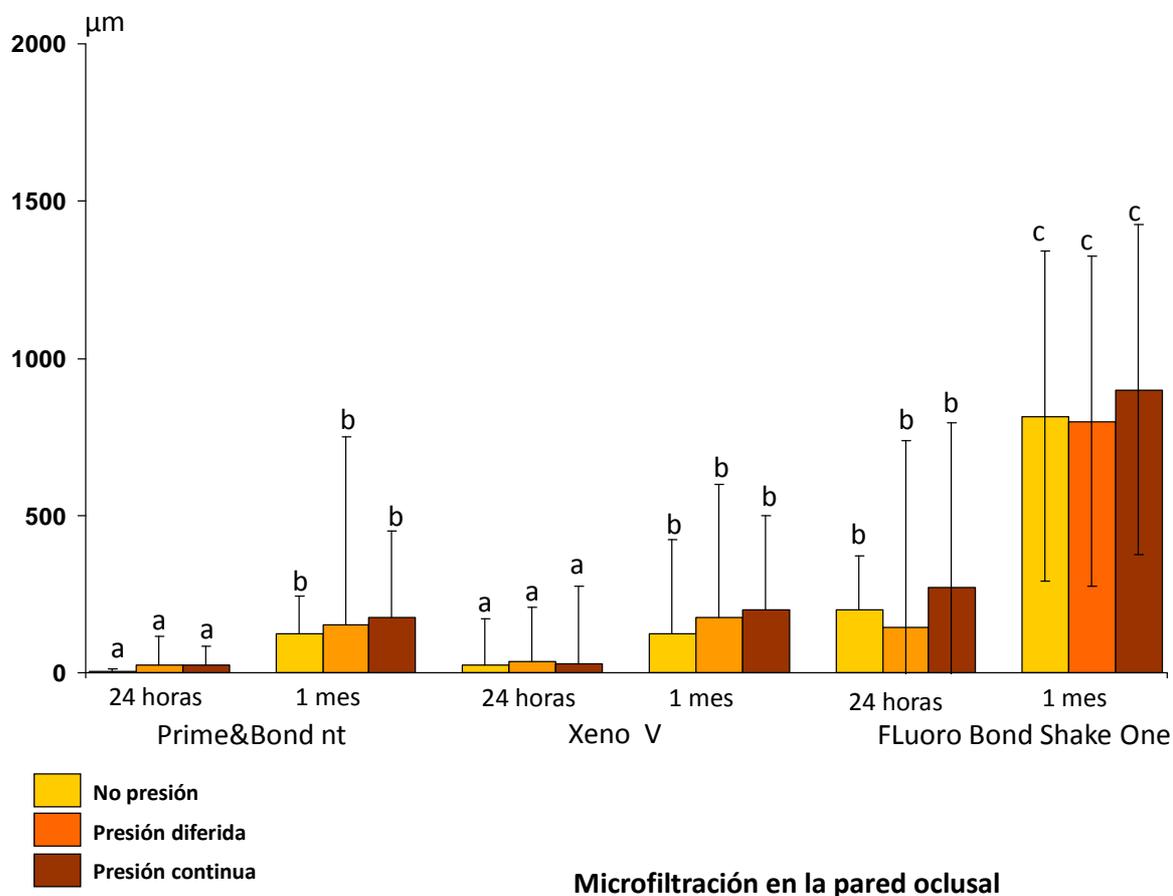
5.1. Evaluación del efecto de la presión pulpar inmediata y diferida en la microfiltración de cavidades de clase V.

El análisis estadístico mostró que las condiciones de presión pulpar, el periodo de inmersión, el tipo de adhesivo y la pared cavitaria influyeron significativamente en microfiltración y permeabilidad. Los resultados de microfiltración están en las Gráficas 1a y 1 b y los de permeabilidad en las Gráficas 2.

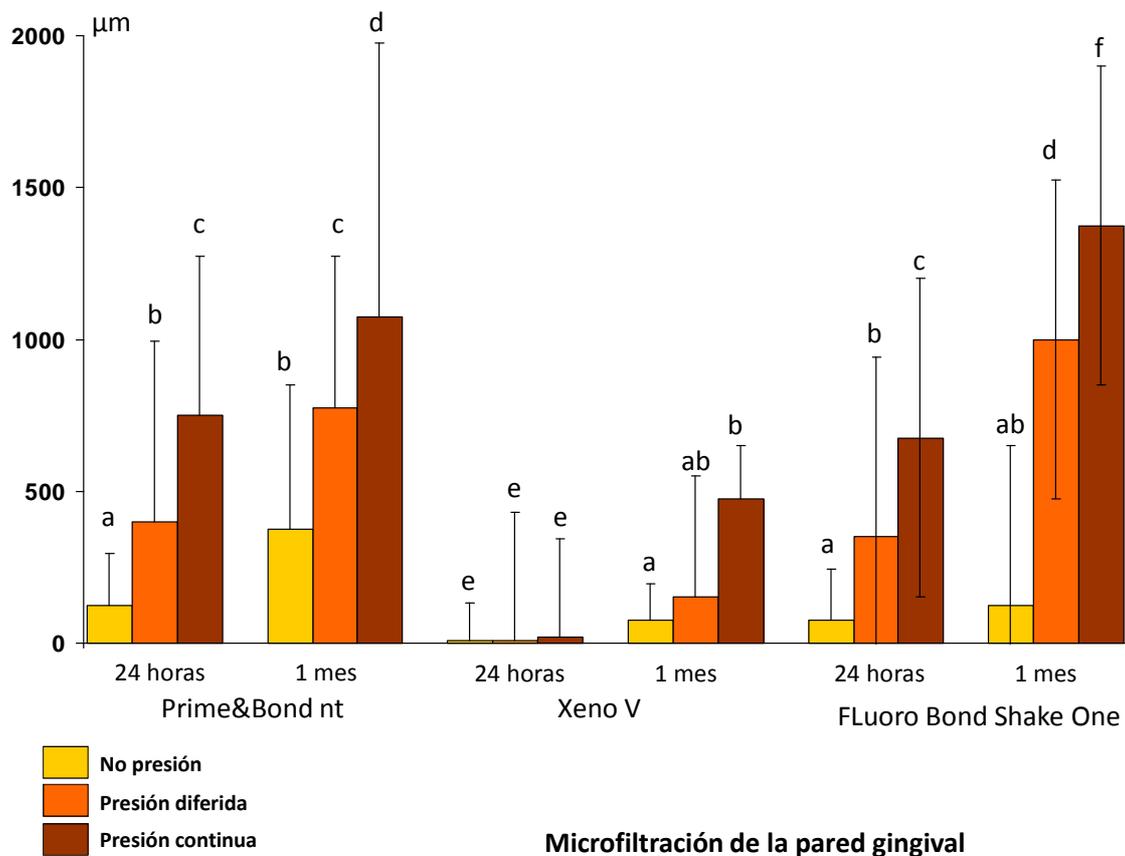
En la pared oclusal las condiciones de presión pulpar no afectaron al sellado, siendo los valores de microfiltración similares en los tres casos. El adhesivo que proporcionó el mejor sellado fue P&B, seguido de XNV y FLB que obtuvieron valores similares entre ellos. El tiempo de inmersión incrementó la microfiltración oclusal de los tres adhesivos, siendo más marcado el efecto en el caso de FLB. En la pared oclusal no se determinó permeabilidad positiva en ninguno de los casos.

El efecto de la presión pulpar fue significativo en la pared gingival. En la pared gingival, se determinó que para los adhesivos P&B y FLB, la aplicación del adhesivo con PD incrementó la filtración. Cuando se aplicaron con PC se obtuvieron los valores más altos de filtración. Sin embargo, las condiciones de presión pulpar a las 24 horas no afectaron el sellado gingival de XNO. El tiempo redujo el sellado de los tres adhesivos, siendo más significativo en el P&B, seguido de FLB y XNO. Los valores de microfiltración gingival más bajos se encontraron con XNO, seguido de FLB y de P&B, que obtuvo los valores más altos. La permeabilidad gingival fue superior en el grupo de P&B, seguido de FLB. XNO obtuvo los valores más bajos. La permeabilidad se incrementó con la PD y aún más con la PC en los tres adhesivos. Los valores de filtración y permeabilidad

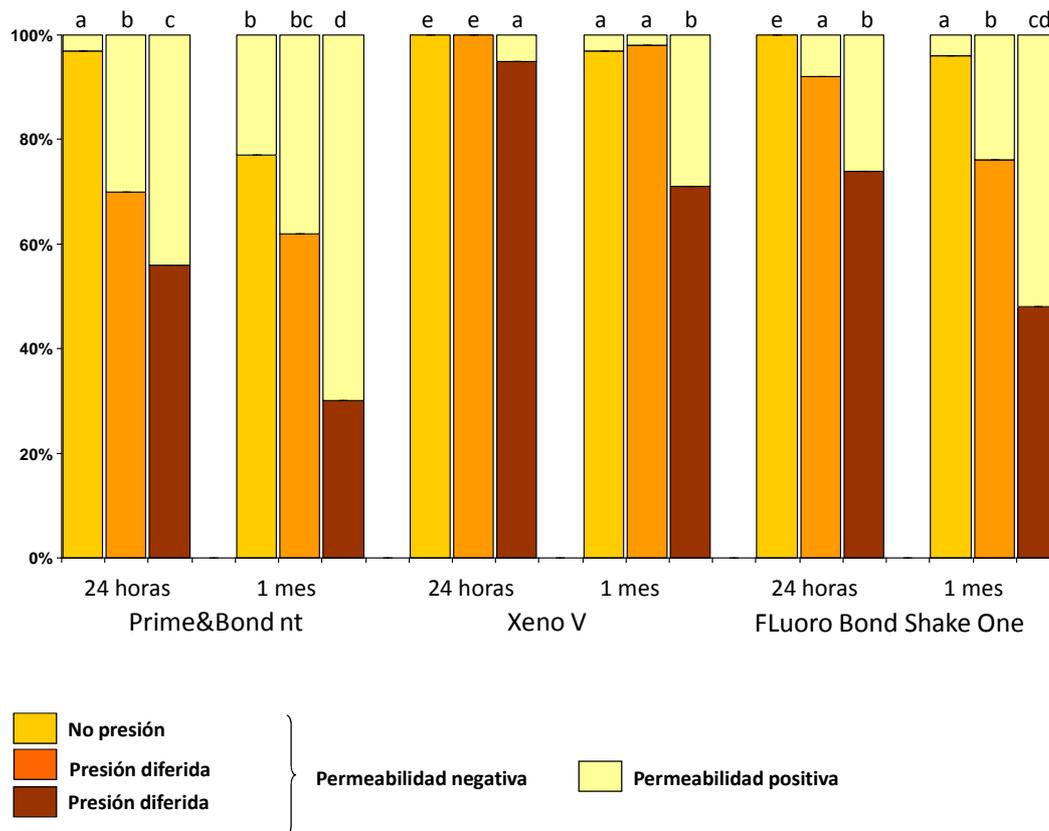
gingival se incrementaron con el tiempo en los tres adhesivos, siendo más patente en P&B y FLB.



Gráfica 1a: Medición de la microfiltración y desviación estándar en la pared oclusal. Barras con diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$).



Gráfica 1b: Medición de la microfiltración y desviación estándar en la pared gingival. Barras con diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$).



Gráfica 2: Porcentaje de de casos con permeabilidad positiva y negativa observados en la pared gingival. Barras con letras diferentes son estadísticamente significativo ($p < 0.05$).

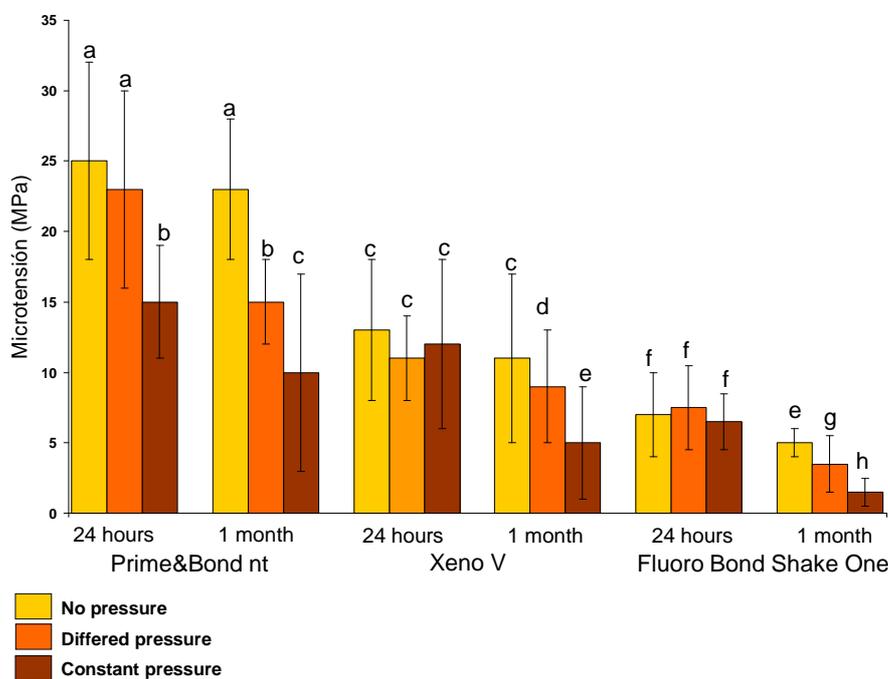
5.2. Evaluación del efecto de la presión pulpar inmediata y diferida en la microtensión de cavidades de Clase V

El análisis estadístico demostró como las condiciones de presión pulpar, período de inmersión y tipo de adhesivo afectan a la microtensión (Grafica 3)

En ausencia de presión pulpar (SP) y a las 24 horas es el adhesivo de grabado total P&B el que obtiene una mayor fuerza de unión frente a los autograbadores XNO y FLB. Siendo el FLB el que menor fuerza de unión presenta.

El adhesivo autogrador XNO es el que menos se afectó bajo las distintas condiciones de presión pulpar (PD y PC) seguido de FLB y el que más resultó perjudicado fue el P&B.

El tiempo de inmersión reduce la fuerza de unión en los tres adhesivos siendo más evidente en FLB.



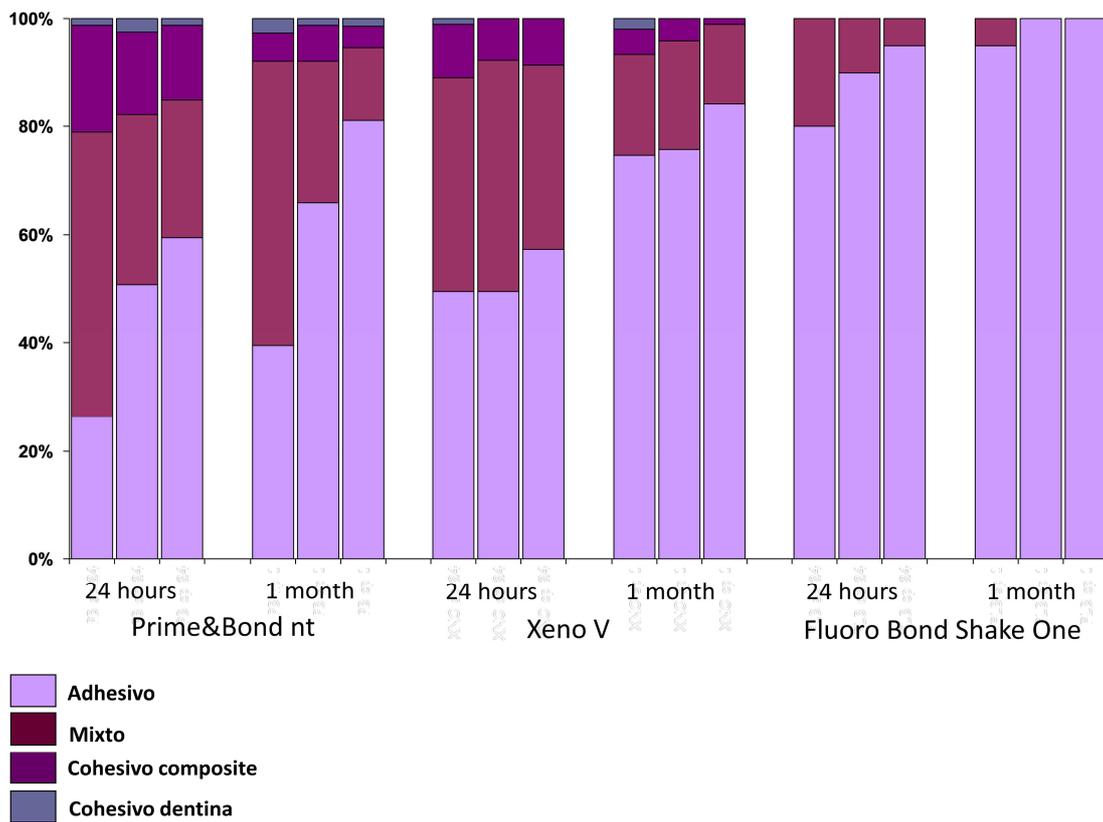
Gráfica 3 : Medición de la microtensión y desviación estándar. Barras con diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

El mayor porcentaje de fallo en los tres adhesivos tanto a las 24 horas como al mes es de tipo adhesivo. Siendo más alto en FLB, seguido XNO y P&B.

También presenta un porcentaje de fallos de tipo mixto P&B y XNO de forma similar a las 24 horas y al mes.

En menor porcentaje presentan fallo de tipo cohesivo del composite XNO y P&B siendo inexistente en FLB.

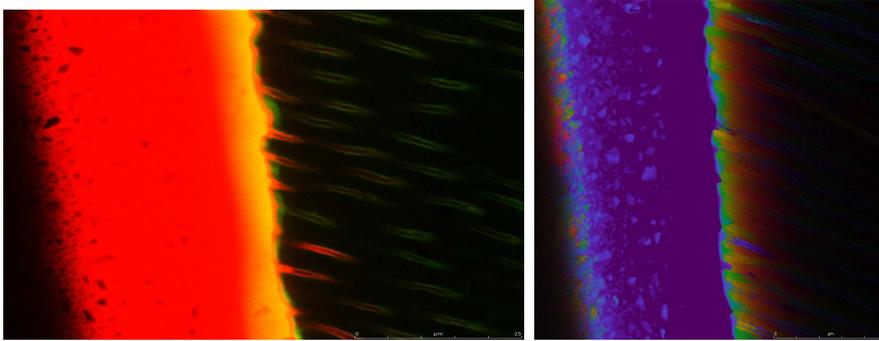
En un escaso porcentaje XNO y P&B presentan fallo de tipo cohesivo de dentina



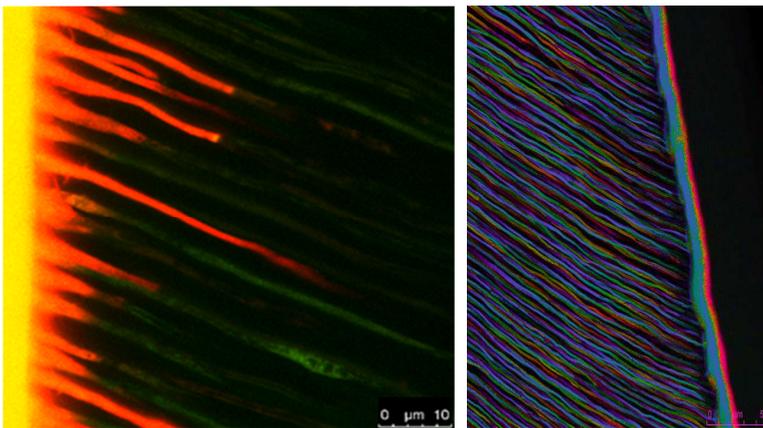
Grafica 4: Porcentaje de tipos de fallo.

5.3. Estudio de la capacidad de sellado tubular de un adhesivo hidrofóbico con microscopia confocal láser.

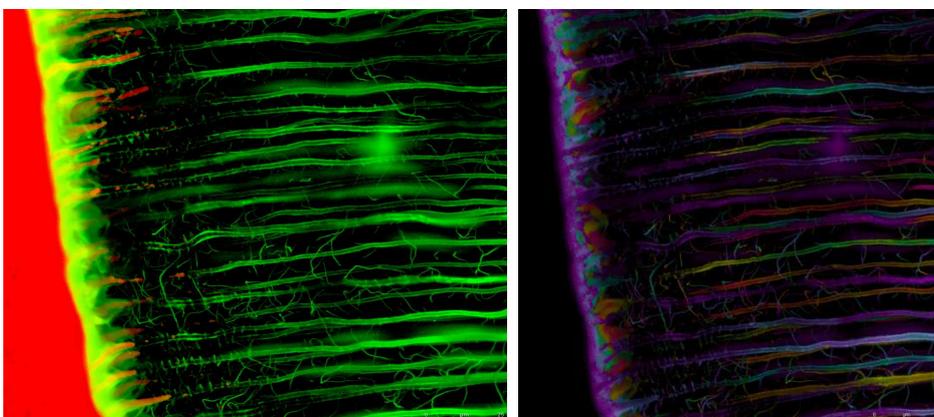
I-Bond®



Prime&Bond XP®



Experimental con etanol



(La rodamina con la que se ha marcado el adhesivo se visualiza en rojo mientras

que fluoresceína con la que se marcó el fluido pulpar se observa en verde)

Según los resultados reflejados en la tabla 4, la capa híbrida más gruesa se observó en el grupo del adhesivo experimental, seguido del adhesivo de grabado ácido Prime&Bond XP y más delgada en el autograbador I-Bond. El grosor de la capa adhesiva ha sido similar en los tres grupos siendo más gruesa en el caso del adhesivo experimental.

En el grupo del adhesivo grabado+experimental con etanol se observó un mayor número de túbulos abiertos por micra, además de un mayor número de túbulos sellados y mayor longitud de sellado.

5.4. Metodología para la evaluación del *gap interfacial* mediante microscopia confocal de luz blanca.

Tabla 4. Tamaño del gap interfacial (anchura y longitud) (media (DE)).

Material Restauración	Adhesivo	Anchura de gap inicial (micras)	Anchura de gap 24h	Longitud de gap inicial	Longitud de gap a 24h
Spectrum TPH	Xeno V	6 (1) a	5 (1) aA	80(29) aA	73 (23)aA
Spectrum TPH	XP Bond	8 (3) b	7 (3) bA	104 (28)bA	91(20)bA

Los valores en la misma columna con letras diferentes fueron estadísticamente distintos ($p < 0,05$)
 DE: desviación estándar. La comparación entre resultado inicial y a las 24 horas no fue significativa ($p > 0.05$)

Tabla 5 de microfiltración en micras μm

Material de restauración	Adhesivo	Pared oclusal a las 24 horas	Pared gingival a las 24horas
Spectrum TPH	Xeno V	130 (169) a	71 (153) a
Spectrum TPH	XP Bond	19 (10) b	581 (593) b

Desviación estándar $p > 0.05$ (El valor entre paréntesis)

El tamaño del *gap interfacial*, tanto en anchura como en longitud, es menor en el XNO que en XPB inicialmente y a las 24 horas.

El análisis estadístico mostró que el tipo de adhesivo y la pared cavitaria influyeron significativamente en la microfiltración. En la pared oclusal, el sistema XPB obtuvo menor microfiltración que XNO. En la pared gingival, las cavidades selladas con XNO obtuvieron menor filtración que las selladas con XPB.

Se determinó una correlación positiva entre la microfiltración y el *gap interfacial*. Cuanto mayor fue el *gap*, mayor fue la microfiltración.

6. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran que la presión pulpar condiciona el sellado de las cavidades clase V en su pared gingival. La pared oclusal no se ve afectada por el fluido pulpar debido a que está bordeada de esmalte, habiendo sido este hecho corroborado en otros estudios ¹³³. En la pared gingival, el tipo de presión pulpar afectó el sellado de forma diferente. En general, la presión pulpar constante redujo más el sellado que la presión diferida. Pero, la presión diferida tuvo un efecto significativo debido a que incrementó los valores de filtración comparados con los grupos sin presión pulpar.

La presión diferida muestra el efecto del deterioro de la unión debido a la degradación hidrolítica. Se ha demostrado que el fluido de la pulpa difunde a través de los microcanales existentes en la capa híbrida y en el adhesivo ¹²⁵⁻¹²⁷. Se ha visto que puede invadir la capa híbrida, la capa de adhesivo e incluso llegar hasta el composite ^{103,105, 138}. Por lo tanto, el flujo de fluido por los microcanales del polímero está presente. Este hecho degenera hidrolíticamente la unión y tiene consecuencias en el sellado.

La presión pulpar constante provocó una mayor reducción del sellado, obteniéndose, en general, una mayor filtración que en los grupos control y de presión diferida. El efecto de la presión pulpar constante es suma de dos fenómenos. Por un lado, el efecto en sí de aplicar un adhesivo en una superficie donde fluye líquido y hay una humedad extra. Y, por otro lado, se suma el efecto de la degradación hidrolítica debido al contacto constante del fluido con el adhesivo. En este caso, la microfiltración es mayor por estos dos factores. Junto a esto, el deterioro que se produce en el adhesivo durante su colocación, condiciona una mayor permeabilidad y, por lo tanto, se acelera la degradación hidrolítica ^{109,133}. Esto se puede observar en los tres adhesivos (figs. 3 y 4). En el caso concreto de XNO, se logra un sellado que aparentemente no es afectado por la presión pulpar constante. A las 24 h no hay diferencias entre las tres condiciones de presión pulpar. Sin embargo, al cabo de un mes, el daño provocado por la

presión pulpar en el momento de su colocación, se traduce una mayor degradación hidrolítica y, en consecuencia, en una mayor filtración.

Existen diferencias entre los tres adhesivos utilizados. P&B requiere del grabado ácido previo, con lo que los túbulos son completamente abiertos y el fluido pulpar puede fluir libremente, lo que lo hace más sensible a la técnica a causa de la menor oportunidad de obtener una hibridación y sellado óptimos de los túbulos dentinarios (Frankenberger et al 2000; Aguilar-Mendoza, et al 2007). El grabado ácido provoca un frente de desmineralización con la exposición de las fibras de colágeno que ha de ser infiltrado por el adhesivo (Van Meerbeek, et al 1992). El proceso de infiltración puede que no sea completo debido al riesgo de la sobrehidratación (Itthagaram A, et al 2000). Sin embargo XNO y FLB son autograbadores que incorporan una resina ácido que desmineraliza e infiltra simultáneamente eliminando el riesgo de dejar zonas sin infiltrar además de provocar una erosión ácida menor, con una menor apertura tubular (Oliveira SSA et al 2002), por lo que tienen un menor contacto con el fluido pulpar (Prati C 1995).

La micropermeabilidad se basa en la presencia de moléculas hidrofílicas. Los tres adhesivos probados contienen moléculas hidrofílicas ¹³² como HEMA, PENTA, pyro-EMA ó 4-AETA. HEMA se incluye en muchos adhesivos, concretamente en XNO y FLB. Es una molécula que mejora la humectabilidad y la solubilidad de las moléculas hidrofóbicas del adhesivo como Bis-GMA o TEGMA.... Sin embargo, debido a su hidrofilia, se ha demostrado que, una vez polimerizada, es capaz de absorber agua y ser hidrolizada. De esta manera, se facilita la creación de microcanales en el polímero y la degradación hidrolítica. Así se explica la difusibilidad de agua desde la pulpa al adhesivo, su degradación y consecuente incremento de la filtración margina. La ventaja clínica de la molécula HEMA es que actúa como desensibilizante acuoso de la dentina al ser miscible con agua formando un hidrogel blando sobre la polimerización previniendo de este modo la sensibilidad postoperatoria (Peppas et al 2000). Además de estas moléculas hidrofílicas, la formulación de los adhesivos utilizados contienen las moléculas principales que establecen la trama polimérica y que son hidrofóbicas

(Van Landuyt et al, 2007). Estas moléculas son Bis-GMA (en P&B y FLB) o UDMA (en XNO) y TEGDMA (en los tres adhesivos). Se ha evidenciado que estas moléculas también pueden absorber agua. Sideridou et al (2003) determinaron que el ranking de absorción de agua era TEGDMA>Bis-GMA>UDMA. Esto ayuda a entender la menor micropermeabilidad de XNO. También se ha determinado que estas moléculas hidrofóbicas absorben un 75% (vol) de agua (Sideridou et al, 2007). Por otro lado, la elasticidad de las moléculas es diferente, siendo más rígida la molécula Bis-GMA que UDMA (Sideridou et al, 2003). Este factor puede ayudar a interpretar la menor filtración obtenida por XNO, ya que, durante la contracción de polimerización puede compensar el estrés generado. Sin embargo, FLB sufre un incremento de la microfiltración, incluso mayor, al mes, que P&B. FLB es un adhesivo con base de ionómero de vidrio que incorpora en su composición 4-AET y 4-AETA. Estas moléculas contienen grupos carboxilo y se introdujeron en el adhesivo para mejorar la penetración en la dentina y proporcionar una mejor polimerización del adhesivo (Ikemura et al, 1996, Van Landuyt et al, 2007). Estas moléculas son hidrofílicas y se ionizan en presencia de agua para facilitar una reacción ácido-base que permita una reacción con el calcio de la dentina. Sin embargo, su disociación iónica en medio acuoso incrementa la solubilidad del adhesivo y puede ser la causa del gran incremento de filtración bajo condiciones de presión (tanto diferida como constante) y más acentuadas al cabo de un mes. Se ha podido determinar que FLB bajo condiciones de presión pulpar tras un test de microtensión obtiene mayores fallos adhesivos que sin presión pulpar, donde hay mayor número de fallos cohesivos en la dentina (Hosaka et al, 2007). Se apunta la posibilidad de que la penetración del agua desde los túbulos dentinarios podría acumularse entre el adhesivo y el composite durante la adhesión (Hosaka, et al, 2007), al igual que ocurre con adhesivos como el I-Bond (Chersoni et al, 2004).

Otra variable estudiada en este trabajo fue el efecto del tiempo de inmersión (24h vs. 1 mes). Todos los adhesivos se han afectado, independientemente de las condiciones de presión pulpar. Este hallazgo ha sido registrado por otros autores, que también determinan un incremento de la filtración con el paso del tiempo

(CITAS). Se ha podido demostrar que la inmersión en agua deteriora la resina por degradación hidrolítica. Se produce una absorción de agua a través de los microcanales del polímero y se hidrolizan las uniones entre las moléculas del adhesivo, debilitándose la unión. Este agua proviene de la cámara pulpar y del medio en el que se encuentra el diente. Por este motivo, en los grupos sin presión pulpar hay mayor filtración transcurrido un mes, ya que son afectados por el agua proveniente del medio. Y en la pared oclusal (donde no hay efecto de la presión pulpar) se produce el mismo fenómeno, obteniéndose mayor filtración al mes. Hay autores que no determinan un efecto deteriorante con el tiempo. En estos artículos, no se ha evaluado el sellado sino la fuerza de adhesión. Es posible que una cavidad comience a tener una mayor filtración a pesar de mantener los valores de fuerza de unión. Bortolotto ¹³⁷ et al (2010) demostraron que no hay correlación entre la fuerza de unión y la adaptación marginal.

La pared cavitaria ha sido otro factor que ha influido en el sellado. El sellado ha sido superior en la pared oclusal en todos los adhesivos. Especialmente, al utilizar P&B. El esmalte es un tejido casi exclusivamente mineral, con muy bajo contenido acuoso y con prácticamente nulo contenido orgánico (Nakabayashi y Pashley, 1998). El grabado ácido previo con ácido fosfórico provoca la erosión de los prismas del esmalte y hace una superficie muy retentiva que explica los resultados de P&B. Sin embargo el pH de XNO y FLB es más alto y la erosión es menor, por lo que el sellado se reduce. En el caso concreto de FLB, al cabo de un mes la filtración es mayor, por el pH del adhesivo (pH=2,2) (Van Landuyt et al, 2007), que es más débil que el del XNO (pH<1)¹⁰⁸ (Van Landuyt et al, 2007) y por la hidrofilia del material, que se deteriora más rápidamente que los demás

La biodegradación de la capa híbrida involucra una cascada de eventos "*in vivo*". El primer estadio empieza cuando la dentina es condicionada para remoción de la smear layer, exponiendo la trama colágena subyacente para formación de la capa híbrida. El segundo estadio envuelve la extracción de la resina que había infiltrado la matriz dentinaria vía espacios nanométricos rellenos por el agua en

la capa híbrida. El tercer estadio envuelve el ataque enzimático a las fibras colágenas, llevando a una disolución de la capa híbrida ⁷. A medida que esos eventos se suceden, la lenta absorción del agua por los constituyentes de la interfaz de unión puede resultar en disminución en la resistencia adhesiva debido a los efectos degradantes del agua sobre la resina y el colágeno; de la sorción del agua y/o hidrólisis del adhesivo, así como al ataque hidrolítico a las fibras colágenas en la base de la capa híbrida .

De acuerdo con Sano y cols el colágeno puede contribuir más que el agente de unión para la resistencia adhesiva dentina-resina. Por este motivo, la hidrólisis de las fibras colágenas ejercería un importante papel en la reducción de la resistencia adhesiva a lo largo del tiempo . Recientemente, esta degradación del contenido colágeno dentinario de la capa híbrida viene siendo atribuida a la acción de enzimas capaces de desleír las fibrillas de colágeno: las metaloproteinasas (MMP-2, -8, -9 y -20)⁵. Tales sustancias, presentes en el tejido dentinario, vienen siendo implicadas como coadyuvantes en el proceso de envejecimiento de las restauraciones, siendo lentamente liberadas de la matriz dentinaria desmineralizada, contribuyendo para una degradación progresiva de la capa híbrida . Considerando que la degradación de algunas áreas no completamente rellenadas por adhesivo en la interfaz de unión puede ser derivada de metaloproteinasas provenientes de la matriz dentinaria,

Pashley y cols realizaron un estudio para evaluar la actividad colagenolítica de sustratos dentinarios en diferentes condiciones: dentina inalterada, dentina con inhibidores de proteasa-4, dentina como clorhexidina 0,2% y dentina condicionada con ácido fosfórico a 37% por 15 segundos. Los resultados demostraron que el grupo tratado con clorhexidina inhibió la actividad colagenolítica a valores próximos a cero. Recientemente se demostró que la clorhexidina posee propiedades inhibitorias en relación a la MMP ⁵. El empleo de esta sustancia antes del uso de sistemas adhesivos convencionales puede tener un potencial adicional en prevenir la degradación de las fibras colágenas en la capa híbrida dentinaria, además de su ya conocido poder antimicrobiano .

Para Okuda y cols (3), la resina comprendida entre los espacios interfibrilares (monómeros resinosos) parece ser la porción más débil de la capa híbrida, susceptible a la degradación, siendo capaz de comprometer la longevidad de las restauraciones adhesivas. Así, para alcanzar una adhesión dentinaria duradera y un sellado resistente a lo largo del tiempo, monómeros existentes en la composición de los agentes de unión deben ser convertidos en polímeros estables de alto peso molecular (16) durante el proceso de polimerización. De ese modo, la susceptibilidad de componentes resinosos a la hidrólisis, probablemente resulta de un bajo grado de conversión y de uniones cruzadas (3). Después de la polimerización, el contenido acuoso proveniente del tejido dentinario puede reducir las fuerzas friccionales entre las cadenas poliméricas del agente de unión, ocurriendo una reducción de las propiedades mecánicas de la porción resinosa, haciendo el polímero absorber agua o hinchar, un proceso conocido como plasticización de la resina (26). Los efectos degradantes del agua sobre los polímeros ocurren a través de la absorción del agua, que actúa rompiendo las interacciones entre las cadenas poliméricas (27). Además, el silano parece ser la unión más débil entre las partículas de carga y la matriz resinosa en la presencia del agua (16). El tipo de abordaje empleada por los diversos sistemas adhesivos disponibles en el mercado para alcanzar una adhesión satisfactoria se muestra como un factor relevante a ser considerado. En ese sentido, la estrategia simplificada para formación de la capa híbrida de los agentes autograbadores viene siendo apuntada como de durabilidad cuestionable, una vez que la existencia de monómeros de gran hidrofilia en su composición los haría bastante susceptibles a los efectos degradantes del agua (15). A partir de esta observación, el empleo clínico debería ser fundamentado para el uso de adhesivos menos hidrofílicos y, consecuentemente, menos susceptibles al deterioro por el agua.

Conforme Inoue y cols , el potencial de interacción química de monómeros de resina algunos agentes de unión junto a los cristales de hidroxiapatita que cercan las fibras colágenas en la capa híbrida sería capaz de proteger la trama colágena contra la acción del medio acuoso. Además, los adhesivos con flúor en su

composición pueden interrumpir la cadena de degradación hidrolítica en la interfase de unión.

Los métodos de medida del gap interfacial (brecha de unión) tradicionalmente han sido las réplicas de resina Epofix y su observación con un microscopio electrónico de barrido. Con las replicas estudiamos la topografía de la unión la presencia o no de gap y su tamaño al igual que en el microscopio confocal de luz blanca pero con nuestra metodología simplifica el proceso ya que nos evitamos el pesado procesamiento de las muestras.

Los resultados obtenidos tienen repercusiones clínicas. Los sistemas adhesivos son materiales que tiene una alta interacción con el tejido biológico. El reto futuro es lograr sistemas adhesivos que interaccionen con el fluido pulpar para lograr una unión más estable y duradera. (Jonson et al, 2008). Es importante investigar en la adhesión hidrofóbica y buscar sistemas adhesivos que aplicándose bajo condiciones húmedas (en presencia de cantidades mínimas de agua) logren desplazar completamente el agua y consigan una matriz de polímero completamente hidrofóbica que prevenga la nanofiltración. Así, se mejoraría la durabilidad de la unión.

7. CONCLUSIONES

Las conclusiones de este estudio son las siguientes:

1. La presión pulpar afecta al sellado y a la fuerza de unión. El efecto es más intenso cuando hay presión inmediata.
2. Los sistemas adhesivos se afectan por la sobrehidratación proveniente en el momento de aplicar el adhesivo (presión inmediata) y sufren un deterioro posterior por el contacto continuo con el fluido pulpar a lo largo del tiempo (presión constante).
3. El deterioro sufrido por la sobrehidratación en el momento de aplicar el adhesivo, hace más sensible al adhesivo y se deteriora más a lo largo del tiempo.
4. El adhesivo más sensible a la presión pulpar fue el P&B y el FLB. XNO fue el menos afectado.
5. El tiempo de inmersión afectó el sellado y la fuerza de unión. Este efecto fue significativo bajo presión diferida y aún más manifiesto bajo condiciones de presión constante. Con lo cual, se concluye que el deterioro del adhesivo por la presión pulpar se debe, por un lado al deterioro sufrido en el momento de ser aplicado y por otro lado al contacto continuo a lo largo del tiempo.
6. La degradación del adhesivo es más manifiesta a lo largo del tiempo cuando ha sido dañado en el momento de su aplicación.

7. La pared oclusal, bordeada de esmalte, es más resistente a la filtración que la gingival, sobre todo si se utiliza grabado ácido previo.
8. En la pared gingival, XNO proporciona el sellado y fuerza unión más alto. P&B y FLB obtienen sellados similares. En la pared oclusal, P&B obtiene el sellado más alto, seguido de XNO y FLB que obtienen valores similares.
9. El tiempo de inmersión redujo el sellado y la fuerza de unión en ambas paredes en todos los adhesivos. XNO fue el que menos se afectó.
10. El efecto de la presión pulpar en el momento de la aplicación del adhesivo ya provoca un deterioro en la adhesión en los tres sistemas adhesivos que es progresivo con el paso del tiempo.
11. El adhesivo hidrofóbico logró un mayor sellado que el adhesivo con grabado ácido previo y similar al adhesivo autograbador pero no logró un sellado hermético.
12. La metodología propuesta para la determinación del tamaño de la brecha logra medidas fiables y evaluables en función del tiempo. Se ha determinado una relación entre la brecha de unión y el sellado.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mat* 2012; 28:72-86.
2. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M & Tezvergil-Mutuay A. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mat* 2011; 27(1):1-6.
3. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J & Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mat* 2011;27(1):17-28.
4. Tjäderhane L, Carrilho MR, Breschi L, Tay FR & Pashely DH. Dentin basic structure and composition. An overview *Endodontic Topics* 2012; 20(1):3-29.
5. Tjäderhane L, Buzalaf MAR, Carrilho M, & Chaussain C. Matrix metalloproteinases (MMPs) and other matrix proteinases in relation to cariology: The era of "Dentin Degradomics" 2015 *Caries Research* (en prensa)
6. Kermanshahi S, Santerre JP, Cvitkovitch DG, & Finer Y. Biodegradation of resin-dentin interfaces increases bacterial microleakage. *J Dent Res* 2010; 89(9):996-1001.
7. Tjäderhane L. Dentin Bonding: Can we make it Last?. *Oper Dent* 2015; 40(1):4-8
8. Hashimoto M.; Ohno H.; Sano H.; Kaga M.; OGUCHI, H. Degradation Patterns of Different Adhesives and Bonding Procedures. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* 2003; 66: 324-30
9. Okuda M.; Pereira P. N. R.; Nakajima M.; Tagami J. Relationship Between Nanoleakage and Long-Term Durability of Dentin Bonds. *Oper. Dent.* (2001); 26: 482-490.

10. Okuda M.; Pereira P. N. R.; Nakajima M.; Tagami J. Pashley D. H.: Long-Term Durability of Resin Dentin Interface: Nanoleakage vs Microtensile Bond Strength. *Oper. Dent.* 2002; 27: 289-96.
11. Hashimoto M.; Ohno H.; Sano H.; Kaga M.; Oguchi H.; Endo K.: "*in vivo*" Degradation of Resin-Dentin Bonds in Humans over 1 to 3 years. *J. Dent. Res.* 2000; 76(6): 1385-91.
12. Hashimoto M.; Ohno H.; Sano H.; Kaga M.; Oguchi H.: *in vitro* Degradation of Resin-dentin Bonds Analyzed by Microtensile Bond Test, Scanning and Transmission Electron Microscopy. *Biomater* 2003; 24: 3795-803.
13. 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.
14. Itthagarum A, Tay FR. Self-contamination of deep dentin by dentin fluid *American Journal of Dentistry* 2000; 13 (4) :195-200.
15. Sauro S, Mannocci F, Toledano M, Osorio R, Thompson I, Watson TF Influence of the hydrostatic pulpal pressure on droplets formation in current etch-and-rinse and self-etch adhesives: A video rate/TSM microscopy and fluid filtration study. *Dent Mat* 2009; 25(11) :1392-1402.
16. Sauro S, Pashley DH, Mannocci F, Tay FR, Pilecki P, Sherriff M et al Micropermeability of current self-etching and etch-and-rinse adhesives bonded to deep dentine: a comparison study using a double-staining/confocal microscopy technique. *European Journal of Oral Sciences* 2008 ;116(2) :184-193
17. Hashimoto M, Fujita S, Kaga M, Yawaka Y. In Vitro durability of one-bottle resin adhesives bonded to dentin *Dent Mat J* 2007;26(5) :677-686.
18. Sauro S, Pashley DH, Montanari M, Chersoni S, Carvalho RM, Toledano M, et al (2007) Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent Mat* 2007;23(6): 705-713
19. El-Deeb HA, Al Sherbiney HH, Mobarak EH. Bond durability of adhesive containing modified-monomer with/without-fluoride after aging in artificial

- saliva and under intrapulpar pressure simulation. *Oper Dent* 2012; 37(5): 112-120
20. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Hiraishi N, Yiu CKY. Water treeing in simplified adhesives. *Oper Dent* 2005; 30(5) 561-579.
 21. Sideridou I, Tserki V, Papanastasiou G. Study of water sorption, solubility and modulus of elasticity of light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomater* 2003; 24(4):655-665.
 22. Nakajima M, Hosaka K, Yamauti M, Foxton RM, Tagami J (2006) Bonding durability of a self-etching primer system to normal and caries-affected dentin under hydrostatic pressure in vitro. *Am J of Dent* 2006; 19(3): 147–150.
 23. Feitosa VP, Leme AA, Sauro S, Correr-Sobrinho L, Watson TF, Sinhoreti MA, et al. Hydrolytic degradation of the resin-dentine interface induced by the simulated pulpal pressure, direct and indirect water ageing. *J Dent* 2012; 40:1134-1143.
 24. Salz U, Zimmermann J, Zeuner F, Moszner N (2005) Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. *J Adh Dent* 2005 ; 7(5):107-116.
 25. Tay FR, Pashley D. Water treeing-a-potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J of Dent* 2003; 16(1) :6-12.
 26. Hosaka K, Nakajima N, Yamauti M, Aksornmuang J, Ikeda M, Foxton RM, Pashley DH, Tagami J. Effect of simulated pulpal pressure on all-in-one adhesive bond strengths to dentine. *J Dent* 2007 ;35(3): 207-213
 27. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poteivin A, et al (2007) Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives 2007. *Biomater* 2007 ;28(26): 3757-3785.
 28. Hashimoto M. A . Review-Micromorphological Evidence of Degradation in Resin-Dentin Bonds and Potential Preventional Solutions. *J Biomed Mater Res B Applied Biomaterials* 2010; 92(1) :268-280.
 29. De Souza F. B.; Silva C. H. V.; Palma Dibb R. G.; Delfino C.S.; Beatrice L. C. S.: Bonding performance of different adhesive systems to deproteinized

- dentin - microTBS and SEM. . J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater. 2005; 75B: 158-167.
30. Tay F.R.; Hashimoto M.; Pashley D.H.; Peters M.C.; Lai S. C.N.; Yiu C. K.Y.; Cheong C.: Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. J. Dent. Res. 2003; 82(7): 537-41
 31. Cardoso MV, Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, & Van Meerbeek B. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. Australian Dental Journal 2011; 56 (suplemento 1): 31-44.
 32. Torkabadi S, Nakajima M, Ikeda M, Foxton RM, & Tagami J. Bonding durability of HEMA-free and HEMA-containing one-step adhesives to dentine surrounded by bonded enamel. J Dent 2008; 36(1):80-86.
 33. Takahashi M, Nakajima M, Hosaka K, Ikeda M, Foxton RM, & Tagami J. Long-term evaluation of water sorption and ultimate tensile strength of HEMA-containing/-free one-step self-etch adhesives. J Dent 2011;39(7):506-512.
 34. Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldeli S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho M, Carvalho RM, Tay FR, & Pashley DH. Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer. A review Dent Mat. 2013; 29(10):996-1001.
 35. Tezvergil- Mutluay A, Agee KA, Hoshika T, Uchiyama T, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Thompson JM, McCracken CE, Looney SW, Tay FR, & Pashley DH. Inhibition of MMPs by alcohols. Dent Mat 2011; 27(9):926-933.
 36. Irie M, Suzuki K, Watts DC. Marginal gap formation of light-activated restorative materials: effects of immediate setting shrinkage and bond strength. Dent Mater 2002;18:203-210.
 37. Sun J, Eidelman N, Lin-Gibson S. 3D mapping of polymerization shrinkage using X-ray micro-computed tomography to predict microleakage Dent Mater 2009;25:314-320
 38. Yap AUJ, Shah KC, Chew CL. Marginal gap formation of composites in

- dentine: effect of water storage. *J Oral Rehabil* 2003;20:236-242.
39. Mjor IA, Shen C, Eliasson ST, Richter S. Placement and replacement of restorations in general dental practice in Iceland. *Oper Dent* 2002;27:117-123.
40. García Barbero J, Kesler Nieto F. *Patología y Terapéutica Dental*. Ed. Síntesis, S.A., 1997 Madrid.
41. Gómez de F, Campos Muñoz. *Histología y Embriología Bucodental*. Ed. Panamericana, 2002 Madrid.
42. Veis A. Mineral-matrix interactions in bond and dentin. *J Bone Miner Res* 1993;8(suppl 2):S493-S497
43. Goldberg M, Takagi M. Dentin Proteoglycans: Composition, ultrastructure and functions. *Histochem J* 1993;25:781-806.
44. Tziafas D, Smith AJ, Lesot H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. *J Dent* 2000; 28:77-92.
45. Mjör IA, Nordahl I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. *Arch Oral Biology* 1996; 41:401-412.
46. Lepkowitz W. Further observations on dental lymph in the dentin. *Journal Dental Restorative* 1943;22:287-296.
47. Tagami J y Cols.: Effect of aging and caries on dentin permeability. *Procc Pinn Dent Soc*, 1992;88:149-154
48. Elizova LA, Dimitrieva La izmenenie elektroprovodivosti dentina pri lechenii kariesa. *Stomalologia Mosk*, 1992;(2):30-32
49. Bodecker CF, Lefkowitz W. Vital staining of dentin and enamel. *J Dent Res* 1946;25 :357-359.
50. Garberoglio R, Brännstön M. E. M. investigation of human dentinal tubules. *Archive Oral Biology*, 1976:21:355-362.
51. Outhwait W, Livingston M. Pashley DH. Effects of changes in surface area thickness, temperature and post-extraction time on dentine permeability. *Arch Oral Bio*1976;21:599.
52. Reeder OW, Walton RE, Livingston MJ, Pashley DH. Dentin Permeability: determinants of hydraulic conductance. *J Dent Res* 1978;57:187

53. Nakabayashi N, Watanabe A, Gendosa NJ. Dentin adhesion of "modified" 4-META /MMA –TBB resin: function of HEMA. *Dent Mat* 1992; 8:259-264.
54. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, & Tezvergil-Mutluay A State the art etch-and-rinse adhesives *Dent Mat* 2011; 27(1): 1-16.
55. Carvalho RM, Tjäderhane L, Manso AP, Carrilho M. Dentin as a Bonding substrate. *Endodontic Topic* 2012;21 (1):62-88.
56. Perdigão J. Dentin bonding—Variables related to the clinical situation and the substrate treatment *Dent Mat* 2010 26(2) e24-e37.
57. Paúl SJ, Scharer P. Factores de la adhesión dentinaria. Parte I: Revisión de la morfología y fisiología de la dentina humana. *J Esther Dent, ed Española* 1991;1:18-23
58. Torneck CD. Intracellular destruction of collagen in the human dental pulp. *Arch Oral Biol* 1974;60:92.
59. Brännström M, Garberoglio R. Occlusion of dentin tubules under superficial attrited dentin. *Swed Dent J* 1980;4:87
60. Embery G. Glycosaminoglycans of human dental pulp. *J Biol Buccale* 1976;4:229.
61. Takahashi K, Kishi V, Kim S. A scanning electron microscope study of blood vessels of dog pulp using corrosion resin casts. *JOE* 1982;8:131,
62. Tönder KH, Naess G. Nervous control of blood flow in the dental pulp in dogs. *Acta Physiol Scand* 1978;104:13.
63. Bernick S. Vascular and nerve changes associated with healing of the human pulp. *Oral Surg* 1971;33:983.
64. Pashley DH. Dentin permeability: theory and practice. Spangberg, L.S.W.: *Experimental Endodontics*. Boca Raton, CRC Press, Inc., 1990:19-49.
65. Pashley DH, Keahl T, Pashley E, Palmer P. Comparison of in vitro and vivo dog dentin permeability. *J Dent Res* 1981;60:763.
66. Pashley DH, Keppler EE, Williams EC, O'Meara JA. The effect of dentine permeability of time following cavity preparation in dogs. *Arch Oral Biol* 1984;29:65.

67. Pashley DH. Dentin-predentin complex and its permeability: physiologic overview. *J Dent Res* 1985;64:613.
68. Fogel H, Marshall FJ, Pashley DH. Effect of distance from the pulp and thickness on the hydraulic conductance of human radicular dentin. *J Dent Res* 1988;67:1381.
69. Pashley DH, Galloway SE, Stewart FP. Effects of fibrinogen in vivo on dentin permeability in the dogs. *Arch Oral Biol* 1984;29:65.
70. Kraitz L, et al. Blood volume determination of human dental pulp. *J Dent Res* 1980;59:544.
71. Bereridge EE, Brown AC. The measurement of human dental intrapulpal pressure and its response to clinical variables. *Oral Surg* 1965;19:655.
72. Brown AC, Bereridge EE. The relationship between tooth pressure and systemic arterial pressure. *Arch Oral Biol* 1966;11:1181.
73. Christiansen RL, Meyer MW, Visscher MD. Tonometric measurement of dental pulpal and mandibular marrow blood pressures. *J Dent Res* 1977;56:635.
74. Ciucchi B, Bouillaguets S, Holz J, Pashley DH. In vivo estimation of pulp pressure in humans. *J Dent Res* 1993;72:1359.
75. Gazelius B, Olgart L, Edwall L. Noninvasive recording of blood flow in human dental pulp. *Endodont Dent Traumatol* 1986;2:219.
76. Van Hassel HJ. Physiology of the human dental pulp. *Oral Surg* 1971;32:126.
77. Stenvik A, Iversion J, Mjor IA. Tissue and histology of normal and inflamed tooth pulps in macaque monkeys. *Arch Oral Biol* 1972;17:1501.
78. Tönder K, Kvinnsland I. Micropuncture measurements of interstitial fluid pressure in normal and inflamed dental pulp in cat. *JOE* 1983;9:105.
79. Galvanda y Cols. Effect of smear layer removal on the diffusion permeability of human roots. *J Endodon*, 1994; 20 : 83-88
80. Griffiths H y Cols. : Dentine hypersensitivity : the measurement in vitro of streaming potentials with fluid flow across dentine and hydroxyapatite. *J Periodontal Res*, 1993; 28 : 60-64.

81. Kenneth J, Anusavice DMD. Philips Ciencia de los Materiales Dentales, ed. Elsevier Science 2004, Madrid.
82. Camps J, Tardieu C, Déjou J, Franquin JC, Ladaïque P, Rieu R. In vitro cytotoxicity of dental adhesives systems under simulated pulpal pressure. Dent Mater 1997;13:34-42.
83. Van Meerbeek B, Perdigão J & Vanherle G. The clinical performance of adhesives. Journal of Dentistry. 1998; 26 (1): 1 – 20.
84. Perdigão J, Frankerberger R, Rosa B & Beschi L. New trends in dentin / enamel adhesion. American Journal of Dentistry. 2000; 13: 25D – 30D.
85. Van Meerbeek B, Braem M & Vanherle G. Morphological characterization of the interface between resin and sclerotic dentin. Journal of Dentistry. 1994; 22 (3): 141 – 146
86. Gordan V, Vargas M & Cobb D. Evaluation of acidic primers in microleakage of class V composite resin restorations. Operative Dentistry. 1998; 23 (5): 244 – 249.
87. Carpena G, Baratieri L, Caldeira M, Clóviz L. Dental adhesión: Present state of the art and future perspectivas. Quitesence Int 2002; 33:213-224
88. Choudhary K, Nandlal B. Comparative evaluation of shear bond strength of nano-hydroxyapatite incorporated glass ionomer cement and conventional glass ionomer cement on dense synthetic hydroxyapatite disk: An in vitro study. Indian journal of dental research: official publication of Indian Society for Dental Research. 2015; 26(2):170-175.
89. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y. Origin of interfacial droplets with one-step adhesives. 2007; 86(8):739-744.
90. Alani, H.A. and Toh, C. Detection of microleakage around dental restorations: a review. Oper dent 1997; 22: 173-185.
91. Ten, Cate AR. Histología Oral. 2º edición, ed. Médica Panamericana, 1986.
92. Atai M, Watts DC, Atai Z. Shrinkage strain-rates of dental resin-monomer and composite systems. Biomaterials 2005;26: 5015-5020.

93. Verslui A, Tantbirojn D, Lee MS, Tu LS, DeLong R. Can hygroscopic expansion compensate polymerization shrinkage? Part I. Deformation of restored teeth. *Dent Mater* 2011;27:126-133.
94. Rosales JI, Del Castillo R, Molino MA, González H, Cabrerizo MA. Effect Of Hygroscopic Expansion of Resin Filling on Interfacial Gap and sealing: A Confocal Microscopy Study. *J Ad Dent*. 2013; 14: 134-142
95. Abate P, Bertacchini S & Machi R. Adhesion of compomer to dental structures. *Quintessence International*. 2000; 28 (8): 509 – 512.
96. Abate P, Rodriguez V & Machi R. Evaporation of solvent in one bottle adhesive. *Journal of Dentistry*. 2000; 2 (6): 437 – 440.
97. Attin T & Hellwing E. Influence of enamel conditioning on bond strength of resin modified glass ionomer restorative materials and polyacid modified composites. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 1996; 76 (1): 29 – 33.
98. Latta, M.A. and Barkemir W. Dental adhesives in restorative contemporary dentistry. *Dental Clinics of North America*. Vol 42 No. 4. (1998).
99. Koibuchi H. Bonding to dentin with a self-etching primer: the effect of smear layers. *Dental Materials* 2001; 17: 122- 126.
100. Inoue S, Vargas M, Van Meerbeek B & Yoshida Y. Adhesion mechanism of self etching adhesives. En: *Advanced Adhesive Dentistry*. 3^o International Kuraray Symposium. 2000; pp. 131 – 148
101. Itthagarum A, Tay FR. Self-contamination of deep dentin by dentin fluid. *Am J Dent* 2000 13 (4) :195-200.
102. Sauro S, Mannocci F, Toledano M, Osorio R, Thompson I, Watson TF Influence of the hydrostatic pulpal pressure on droplets formation in current etch-and-rinse and self-etch adhesives: A video rate/TSM microscopy and fluid filtration study. *Dent Mat* 2009; 25(11): 1392-1402.
103. Sauro S, Pashley DH, Mannocci F, Tay FR, Pilecki P, Sherriff M et al Micropermeability of current self-etching and etch-and-rinse adhesives bonded to deep dentine: a comparison study using a double-staining/confocal microscopy technique. *European J Oral Sciences* 2008; 116(2) 184-193

104. Hashimoto M, Fujita S, Kaga M, Yawaka Y. In Vitro durability of one-bottle resin adhesives bonded to dentin *Dent Mat J* 2007; 26(5): 677-686.
105. Sauro S, Pashley DH, Montanari M, Chersoni S, Carvalho RM, Toledano M, et al (2007) Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent mat* 2007;23(6) 705-713
106. El-Deeb HA, Al Sherbiney HH, Mobarak EH (2012). Bond durability of adhesive containing modified-monomer with/without-fluoride after aging in artificial saliva and under intrapulpal pressure simulation. *Oper Dent* 2012; 37(5): 123-135.
107. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Hiraishi N, Yiu CKY Water treeing in simplified adhesives. *Oper Dent*; 30(5):561-579.
108. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poteivin A, et al Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomater* 2007;28(26) :3757-3785.
109. Sideridou I, Tserki V, Papanastasiou G Study of water sorption, solubility and modulus of elasticity of light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials* 2003; 24(4):655-665.
110. Nakajima M, Hosaka K, Yamauti M, Foxton RM, Tagami J Bonding durability of a self-etching primer system to normal and caries-affected dentin under hydrostatic pressure in vitro. *Am J Dent* 2006 ;19(3) :147–150.
111. Salz U, Zimmermann J, Zeuner F, Moszner N Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. *Journal Adhesive Dentistry* 2005; 7(5): :107-116.
112. Tay FR, Pashley DH Water treeing-a-potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *American Journal of Dentistry* 2003 16(1) :6-12.
113. Hosaka K, Nakajima N, Yamauti M, Aksormuang J, Ikeda M, Foxton RM, Pashley DH, Tagami J Effect of simulated pulpal pressure on all-in-one adhesive bond strengths to dentine. *Journal of Dentistry* 2007; 35(3):207-213.

114. Özok AR, Wu MK, De Gee AJ, Wesselink PR. Effect of dentin perfusion on the sealing ability and microtensile bond strengths of a total-etch versus an all-in-one adhesive. *Dental Materials* 2004; 20(5): 479-486
115. Ikemura K, KouroY, Endo T (1996) Effect of 4-acryloxyethyltrimellitic acid in a self-etching primer on bonding to ground dentin. *Dent Mat*; 15(2): 132-143.
116. Ciucchi B, Bouillaguer S, Holz J, Pashley D Dentinal fluid dynamics in human teeth, in vivo. *Journal of Endodontics* 1995 21(4) 191-194.
117. Pashley DH, Matthews WG (1993) The effect of outward forced convective flow on inward diffusion in human dentin in vitro. *Archives of Oral Biology* 1993; 38(7) 577-582.
118. Reis AF, Giannini M, Pereira PN (2007) Effects of a peripheral enamel bond on the long-term effectiveness of dentin bonding agents exposed to water in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials* 2007 ;85(1): 10-17.
119. Khosravi K, Ataei E, Mousavi M, Khodaeian N . Effect of phosphoric acid etching of enamel margins on the microleakage of a simplified all-*in*-one and a self-etch adhesive system. *Oper Dent* 2009 ;34(5) 531-536.
120. Belli R, Sartori N, Peruchi LD, Guimaraes JC, Araújo É, Monteiro Jr.S, Baratieri LN, Lohbauer U (2010). Slow progression of dentin bond degradation during one-year water storage under simulated pulpar pressure. *J Dent* ; 38(10): 802-810.
121. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y, et al (2007) Origin of interfacial droplets with one-step adhesives. *Journal of Dental Research* 2007 86(8)739-744.
122. Aguilar JA, Rosales JI, Rodríguez MA, González S, Cabrerizo MA (2008) Wettability and bonding of self-etching dental adhesives. Influence of the smear layer. *Dental Materials* 2008; 24 (7) 994-1000.
123. Frankenberger R, Kramerm N, Petschelt A (2000). Technique sensitivity of- dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaptation. *Oper Dent* 2000; 25(4) 324-330.

124. Itthagaram A, Tay FR. Self-contamination of deep dentin by dentin fluid. *Am J Dent.* 2000; 13:195-200.
125. Aguilar JA, Rosales JI, Rodríguez MA, Cabrerizo MA Effect of Acid Etching on Dentin Wettability and Roughness: Self-Etching Primers Versus Phosphoric Acid. *Journal of Biomedical Material Research B Applied Biomaterials* 2008; 84(1) 277-285.
126. Prati C, Ferrieri P, Galloni C, Chersoni S, Mongiorgi R & Davidson CL Dentine permeability and bond quality as affected by new bonding systems. *Journal of Dentistry* 1995; 23(4) :217-226.
127. Perdigao J, DMD, MS, PhD (2007) New Devolpments Dental Adhesion. *The Dental Clinic of Noth America* 2007; 51(2): 333-357.
128. Hashimoto M. A. Review-Micromorphological Evidence of Degradation in Resin-Dentin Bonds and Potential Preventional Solutions. *Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials* 2010 92(1) 268-280.
129. Van Landuyt KL, Snauwaert J, Peumans M, De Munck J, Lambrechts P, Van Meerbeek B .The role of HEMA in one-step self-etch adhesives. *Dental Materials* 2008; 24(10):1412-1419.
130. Sideridou I, Tserki V, Papanastasiou G (2003) Study of water sorption, solubility and modulus of elasticity of light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials* 2003; 24(4) :655-665.
131. Sauro S, Pashley DH, Mannocci F, Tay FR, Pilecki P, Sherriff M et al (2008) Micropermeability of current self-etching and etch-and-rinse adhesives bonded to deep dentine: a comparison study using a double-staining/confocal microscopy technique. *European Journal Oral Sciece.* 2008 ;116 (3)184-193.
132. Ye Q Wang Y, Spencer P Nanophase separation of polymers exposed to simulated bonding conditions. *Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials* 2009 ;88: (2) 339-348.
133. Rosales JI, De la Torre-Moreno FJ, Bravo M Effect of pulp pressure on the micropermeability and sealing ability of etch & rinse and self-etching adhesives. *Operative Dentistry* 2007 32(3) 242-250.

134. Hashimoto M A Review-Micromorphological Evidence of Degration in Resin-Dentin Bonds and Potential Preventional Solutions. *Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials* 2010 ;92(1) :268-280.
135. Tay FR, Pashley DH Water treeing-a-potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *American Journal of Dentistry* 2003; 16(1) 6-12.
136. Bortolotto T, Mileo A, Krejci I. Strength of the bond as a predictor of marginal performance: An in vitro evaluation of contemporary adhesives. *Dent Mat* 2010 26(3) 242-248.
137. Alptekin T, Ozer F, Unlu N, Cobanoglu . In vivo and vitro evaluations of microleakage around class I amalgam and composite restauarations. *Operative Dentistry* 2010 ;35(6): 641-648.

