



Universidad
Nacional
de Córdoba



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESCUELA DE POSGRADO

**“EFECTO DEL pH DE LOS SISTEMAS ADHESIVOS
AUTOCONDICIONANTES SOBRE LAS
CARACTERISTICAS ADHESIVAS DE RESINAS
COMPUESTAS”**

TESISTA:

OD. TERESA AZÓCAR CABELLO

DIRECTOR:

PROF. DR. RODRIGO A. GIACAMAN SARAH PhD

CÓRDOBA, 2015



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).



Programa Doctorado
En Odontología



Universidad Nacional de Córdoba

Universidad de Talca

Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Odontología

Escuela de Posgrado

Trabajo de tesis para optar al Título de
DOCTOR EN ODONTOLOGÍA

**EFFECTO DEL pH DE LOS SISTEMAS ADHESIVOS
AUTOACONDICIONANTES SOBRE LAS CARACTERISTICAS ADHESIVAS
DE RESINAS COMPUESTAS**

Doctoranda

Od. Teresa Azócar Cabello

Director de tesis

Prof. Dr. Rodrigo A. Giacaman Sarah, PhD

2015

Comisión de Seguimiento de Tesis

- 1.- Prof. Dr. Jorge Uribe Echevarría
- 2.- Prof. Dr. José Alberto Riveros de la Vega
- 3.- Prof. Dr. Rodrigo Andrés Giacaman Sarah, PhD

Evaluador Externo

Prof. Dra. Andrea Kaplan

*A mi esposo Patricio y a mis queridos hijos
Juan Pablo, María Paz y María José*

Agradecimientos

Son muchas las personas a quienes agradezco en esta instancia en que llego al final de un largo camino recorrido con grandes momentos, tanto de alegrías como de mucho trabajo y también de tristezas y preocupaciones. Gracias a quienes siempre tuvieron palabras de aliento y sentimientos de afecto, porque fueron un aliciente en los momentos de mayor dificultad.

A mi amigo y colega Daniel Bravo C. por darme los espacios, tiempos y apoyo incondicional.

A mi amigo, colega y Director de esta Tesis por su paciencia, tiempo, y arduo trabajo comprometido para concretar este proyecto. Gracias Rodrigo

A mis hijos, quienes sin saberlo muchas veces fueron ellos el motivo para darme fuerzas, persistir y seguir adelante.

A Patricio, por su infinito amor y comprensión durante todos estos años.

A todos Gracias Totales

Índice

Contenidos

1. Antecedentes del Problema a Investigar	7
2. Planteamiento del problema	16
3. Bibliografía	18
4. Hipótesis	24
5. Objetivos	25
5.1 Objetivo General	25
5.2 Objetivos Específicos	25
6. Capítulo 1:	
Propiedades Mecánicas de los Sistemas Adhesivos Según su pH	26
6.1 Resumen	27
6.2 Abstract	28
6.3 Introducción	29
6.4 Metodologías	32
6.5 Resultados	40
6.6 Discusión	47
6.7 Conclusiones	52
6.8 Bibliografía	53
7. Capítulo 2:	
Efecto de Adhesivos Autograbantes de Distinto pH sobre las Características Ultraestructurales de la Dentina	58
7.1 Resumen	59
7.2 Abstract	60
7.3 Introducción	
7.4 Metodología	

- 7.5 Resultados
- 7.6 Discusión
- 7.7 Conclusiones
- 7.8 Bibliografía
- 8. Capítulo 3:
Inhibición de la Actividad Cariogénica de Sistemas Adhesivos Autograbadores
De Distinto pH en un Modelo de Caries con Biofilms en Dentina
- 8.1 Resumen
- 8.2 Abstract
- 8.3 Introducción
- 8.4 Metodología
- 8.5 Resultados
- 8.6 Discusión
- 8.7 Conclusiones
- 8.8 Bibliografía
- 9. Conclusión

1. Antecedentes del problema a investigar

A través del tiempo, la odontología restauradora ha desarrollado una serie de materiales, técnicas y sistemas de restauración para devolver la integridad, anatomía, función y estética perdida, a los dientes afectados por lesiones de caries y defectos estructurales. Es así, como los estudios e investigación en este campo han estado orientados a obtener una total adaptación y unión de los materiales restauradores al diente, en la actualidad a través del desarrollo de técnicas y materiales restauradores adhesivos. Dentro de estos, las resinas compuestas son los materiales de restauración directa estéticos de primera elección y más utilizados en la práctica clínica, en asociación con sistemas adhesivos (Stewardson et al., 2010), que facilitan su retención en los tejidos duros dentarios. Sin embargo y pese al gran desarrollo alcanzado, estos materiales muestran fallas clínicas que obligan al recambio, comprometiendo la indemnidad del remanente biológico. La principal de estas fallas es la caries secundaria. De ahí la importancia que reviste el estudio y la búsqueda de mejoras de estos materiales, lo que constituye el foco de investigaciones aquí presentadas.

Resinas Compuestas

Los inicios corresponden a la fórmula desarrollada por Bowen en base a la reacción entre un Bisfenol y el metacrilato de glicidilo (bis-GMA), de polimerización química. La evolución de las resinas compuestas ha sido significativa en los últimos cincuenta años. Los cambios más importantes se relacionan con el relleno en busca de mejorar la resistencia mecánica y pulido final, las modificaciones actuales se han centrado en la matriz polimérica del material como una forma de reducir la tensión de contracción de polimerización, y mejorar la adhesión al diente (Chen, 2010). En la década de los 70 las resinas experimentan cambios importantes, aparecen en el mercado las primeras resinas polimerizadas con luz, con un mecanismo basado en una fuente de energía luminosa de luz ultravioleta de 365 nanómetros (nm). En los años ochenta la luz ultravioleta es reemplazada como consecuencia de su poca efectividad, por la luz visible o luz halógena (450 – 470 nm) la que en la actualidad es utilizada al igual que la polimerización con lámparas de alta densidad de potencia como la luz emitida por

diodos (LEDs) (Hérvás-García et al., 2006). La resina compuesta como material presenta diversas formulaciones según las necesidades de uso; material restaurador, sellantes, cementos, materiales para provisionales. Todos ellos están compuestos por una matriz polimérica, un dimetacrilato reforzado con relleno a base de vidrio radiopaco más un acoplamiento de silano que actúa como agente de unión para ambos. El monómero de base predominante en las resinas compuestas ha sido bis-GMA, que por su alta viscosidad debe ser mezclado con otros dimetacrilatos como TEGMA, UDMA (Peutzfeldt, 1997). La mayoría de las resinas compuestas son activadas por luz, siendo la canforoquinona el sistema fotoiniciador más comúnmente utilizado (Stansbury, 2000). En general, los distintos tipos de materiales compuestos se pueden diferenciar por su consistencia. Una resina universal utilizada como material restaurador convencional dispensada en una jeringa, puede tener variedad de consistencias dependiendo de su formulación; resinas fluidas presentan menor viscosidad por reducción del contenido de relleno o mediante la adición de agentes surfactantes que mejoran la fluidez evitando una gran reducción del relleno lo que reduciría significativamente las propiedades mecánicas, con el consiguiente aumento de la contracción de polimerización (Bayne et al., 1998). Resinas empacables presentan consistencia mas viscosa por modificación de la distribución y tamaño del relleno o a través de la incorporación de partículas tipo fibras (Choi et al., 2000). Cada tipo de material compuesto, se identifica por las características del refuerzo o relleno y en particular por el tamaño de estas partículas; Así, han evolucionado desde el macrorrelleno a microrrelleno, midirrelleno, microhíbridos hasta la innovación más reciente, resinas compuestas con nanorrelleno, que sólo contienen partículas nanométricas. Los materiales compuestos con nanorrelleno y nanohíbridos representan el estado del arte en términos de formulación en base al relleno (Chen, 2010). En la actualidad, los esfuerzos tendientes a mejorar la calidad del relleno y por ende las propiedades del material, están orientados a la incorporación de nano fibras, fibras de vidrio y nano partículas de titanio (Chen, 2010). Así como también de sílice fundida y nanopartículas de fosfato dicálcico y tetracálcico que mejoran las propiedades mecánicas y actúan como remineralizantes respectivamente (Xu et al., 2010). El objetivo final es obtener un material en el que sus propiedades mecánicas,

físicas y biológicas en conjunto sean el ideal, pues aún hay poca correlación entre las propiedades que presentan las resinas compuestas y su rendimiento clínico. También el desarrollo de nuevos monómeros ha sido durante mucho tiempo un desafío constante. Siendo ideal, aquel que presenta viscosidad aceptable y baja contracción volumétrica (CV) posterior a la polimerización, y que esto no comprometa el grado de conversión y las propiedades mecánicas del material. Un enfoque para reducir la (CV) ha sido la síntesis de monómeros de dimetacrilato más voluminosos y de mayor peso molecular. Las moléculas más grandes generalmente tienen un rango menor de movimiento, menos grupos funcionales por volumen y por tanto, menor (CV). Sin embargo, esto conduce a la formación prematura del polímero con una polimerización incompleta siendo por esto, necesaria la incorporación de monómeros diluyentes (TEGDMA) para mejorar la eficiencia de la polimerización. En los sistemas actuales de resina compuesta, BisGMA sólo experimenta una (CV) de aproximadamente 5,2%, mientras que TEGDMA experimenta una (CV) de 12,5%; sin embargo, el compuesto resultante incluyendo el relleno sufre una (CV) de alrededor de 2-3% dependiendo de las relaciones de cada monómero utilizado (Chan et al., 2010). En la actualidad se estudia la incorporación de monómeros hiper-ramificados que pueden ser utilizados para reducir la contracción volumétrica sin aumento significativo de la viscosidad (Zhu et al., 2011). Así como, los monómeros de cristal líquido de los cuales se ha informado que presentan alta velocidad de polimerización a temperatura ambiente y bajos valores de contracción en comparación con monómeros convencionales (Satsangi et al., 2005). Con viscosidades relativamente bajas, que permiten la incorporación de partículas de relleno y menor citotoxicidad con respecto a BisGMA. Estos también han sido propuestos, como alternativa para los materiales de restauración ((Boland et al., 2006).

Sistemas adhesivos (Adhesión)

Los avances en el campo de la adhesión continúan. A lo iniciado en 1955 por M. Buonocore, conocida como técnica de grabado ácido sobre esmalte (Buonocore, 1995), se suma el uso de ácido ortofosfórico sobre esmalte y dentina, logrando valores de adhesión similares en ambos tejidos (Van Meerbeek et al., 2003). T. Fusayama (Fusayama, 1980) introdujo el concepto y fue el primero en informar sobre el éxito de grabar simultáneamente esmalte y dentina, técnica conocida como grabado total. Pero la adhesión a dentina grabada fue tema de gran controversia y resistida hasta hoy por un gran número de investigadores, aún cuando el lograr la unión a dentina ha sido el objetivo de numerosos trabajos e investigaciones, en los que se ha querido obtener fuerzas de adhesión similares a las obtenidas en esmalte. La diferencia entre ambas estructuras, tanto en su composición estructural como química, influiría en la capacidad de los sistemas adhesivos de obtener una adhesión similar a la del esmalte (Pashley, 1990; Tay et al., 2001; Pashley et al., 2002). Esto, ha llevado a la evolución de múltiples sistemas de adhesión a dentina, donde los primeros adhesivos desarrollados por M. Buonocore otorgaban valores de 2 y 3 Megapascuales (Mpa), pero al contacto con agua, estos descendían considerablemente. La segunda generación de sistemas adhesivos se basaba en la reacción fosfato/calcio utilizando una resina dimetacrilato en el adhesivo, en lugar de las resinas BIS GMA utilizadas con los sistemas previos, los valores de unión de estos sistemas fueron entre 4 y 6 Mpa.

La utilización de imprimadores (ácidos débiles), para preparar la superficie de la dentina y obtener una mejor humectación por parte del adhesivo fue uno de los avances importantes de los sistemas de tercera generación, los que mostraron valores de resistencia a la unión a dentina similares a esmalte. La eficiencia de esta unión era fundamentalmente producto de la interacción mecánica del adhesivo a la dentina tratada previamente con ácidos débiles que removían o alteraban parcialmente la capa de *smear layer*. Se llega así a hablar de una interface híbrida (Carrillo, 2006). La aplicación de imprimadores con monómeros hidrofílicos, se utiliza en los sistemas adhesivos de cuarta generación como una manera de facilitar la penetración de la resina adhesiva en la dentina descalcificada (Tay et al., 2001). Estos sistemas

mostraron resultados más estables con valores de adhesión entre 12 a 22 Mpa y un mejoramiento significativo en el comportamiento clínico. La presencia de la capa híbrida, es importante en la obtención de valores altos de adhesión y en el sellado de la interface dentina material restaurador.

La formación de la capa híbrida, es el objetivo principal de los sistemas adhesivos de quinta generación, que utilizan el acondicionamiento simultáneo de la dentina y el esmalte, basado en el sistema de una botella que contiene primer y resina adhesiva juntos y se aplican posterior al grabado ácido, en un solo paso.

Fallas Asociadas a las Resinas Compuestas

La razón principal para el reemplazo de restauraciones de resinas compuestas se asocia a caries secundaria y fractura (Sarret, 2005; Astvaldsdóttir et al., 2015). Entonces, las técnicas adhesivas no están libres de dificultades; la contracción de polimerización de los materiales poliméricos es uno de los problemas de mayor significancia clínica que presenta este tipo de técnica. El stress originado por la contracción de polimerización dará origen a desajustes entre la restauración y la cavidad, facilitando la percolación, ingreso de bacterias por las brechas marginales hacia dentina y tejido pulpar (Peutzfeldt et al., 2004; Hashimoto et al., 2006; Hashimoto et al., 2008; Vaidyanathan et al., 2008). La presencia de bacterias entre el diente y la restauración es potencial causa de sensibilidad postoperatoria y caries secundaria (Bourbia et al., 2013). La contracción de polimerización, se origina por la transformación de las moléculas de monómeros en una red de polímero. Los monómeros están dispuestos a una distancia promedio de 4 nm (distancia de unión secundaria) y como consecuencia de la polimerización, se establecen enlaces covalentes y la distancia se reduce a 1,5 nm (distancia de unión covalente) (Peutzfeldt, 1997). Esta contracción volumétrica (CV) genera tensión interna del material y la deformación de la estructura dental circundante (Braga et al., 2004). La reducción de la CV, ha sido un tema importante en el estudio de los materiales poliméricos sin embargo, no está disponible un material libre de contracción. Siendo

la cantidad de relleno inorgánico, el peso molecular del monómero y el grado de conversión de los monómeros los factores que inciden en la ocurrencia de este fenómeno. La magnitud del stress de contracción como consecuencia de la CV se dice es dependiente de: La configuración de la cavidad o factor C, que corresponde al cociente en una restauración de resina compuesta entre la superficie adherida y la superficie libre o no adherida del material. Así, a mayor valor de configuración cavitaria la tensión creada será mayor que la fuerza adhesiva y se formará una brecha entre la cavidad y la resina (Feilzer et al., 1987). De la naturaleza de la matriz orgánica, de la cantidad de relleno y de las propiedades viscoelásticas del material (Labella et al., 1999; Braga et al., 2004). Como ejemplo, compuestos con relativo alto contenido de carga inorgánica presentan valores de contracción más bajos pero mayor rigidez por tanto, menor capacidad de deformación, en comparación con materiales con menor contenido inorgánico (Vaidyanathan et al., 2001). Por otra parte, el aumento del grado de conversión de la matriz a polímero aumenta la CV y el módulo de elasticidad simultáneamente (Silikas et al., 2000). La reducción de las tasas de polimerización en materiales compuestos se ha demostrado que reduce los niveles de stress de manera significativa (Braga et al., 2002). Como resultado de estos fenómenos físicos / mecánicos tendremos asociado a nuestras restauraciones de resina compuesta pobre adaptación marginal, dolor postoperatorio y caries secundaria. La fractura como causa del fracaso de las resinas tiene su explicación en función del diseño de la cavidad, cantidad y calidad del remanente de estructura dentaria y la oclusión, asociado esto al stress generado producto de la CV. A mayor stress de contracción aumenta el módulo de elasticidad del material mayor rigidez y si el diente no es capaz de absorber las tensiones se producirá la fractura (Kleverlaan et al., 2005). Los problemas de fracasos de las resinas compuestas también se asocian a procesos de degradación por descomposición química del material frente a la acción de ciertas enzimas presentes en la cavidad oral (Borges et al., 2011; Bourbia et al., 2013). Las enzimas de la cavidad oral se han clasificado en cinco grandes grupos: esterasas, catalasas, oxidasas, enzimas proteolíticas como proteinasas y anhidrasas (Chauncey, 1961). Siendo las esterasas las más estudiadas en su acción frente a la degradación de las

resinas compuestas. La infiltración de enzimas salivales en la brecha marginal puede promover la destrucción de la interface de unión y de la resina compuesta (Shokati et al., 2010). Facilitando además la microfiltración de bacterias entre el margen de la restauración y el diente (Kermanshahi et al., 2010). También se sugiere que *S. mutans* agente etiológico de la caries dental presenta actividad de esterasas en niveles capaces de degradar tanto la resina compuesta como el sistema adhesivo (Bourbia et al., 2013). En consecuencia la formación del biofilm bacteriano puede dar lugar e iniciar el proceso de degradación de la resina compuesta y además promover la desmineralización de la superficie del diente dando inicio a caries secundaria.

Caries secundaria

Caries secundaria es la aparición de caries en la interface diente restauración. Lo que significa que la lesión de caries está relacionada con la restauración primaria, siendo esta la razón más importante en el fracaso y reemplazo de las restauraciones en dientes permanentes (Mjör et al., 2000). Probablemente las mismas bacterias presentes en el biofilm oral implicadas en la etiología de la caries primaria, sean quienes jueguen un rol importante en el desarrollo de la caries secundaria (Mjör, 1997). El *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), es una bacteria conocida por su alta cariogenicidad, pese a que actualmente no es considerada como etiológica de la enfermedad, sino una de las bacterias que prolifera y causa daño cuando las condiciones medioambientales de la boca cambian generándose desequilibrios en el biofilm oral. *S. mutans* presenta gran afinidad hacia los materiales poliméricos, se ha reportado, que estos no poseen actividad antibacteriana intrínseca y por tanto acumulan más placa que otros materiales restauradores in vitro (Beyth et al., 2007) e in vivo (Auschill et al., 2002). Las restauraciones de amalgama liberan iones metálicos que poseen efectos antibacterianos (Netuschil et al., 1996). Los vidrios ionómeros tienen liberación del ión flúor el que reduce la acidogenicidad de las bacterias por disminución de la producción de ácidos (Van Dijken et al., 1991). En ambientes ácidos mayor cantidad de fluoruros es liberada desde las restauraciones. La

velocidad a la que el fluoruro se libera puede aumentar con la producción de ácidos por parte de las bacterias cariogénicas (Karantakis et al., 2000). En relación a la afinidad que presenta *S. mutans* por las resinas compuestas, no hay claridad absoluta, si esto es causado por monómeros sin reaccionar no polimerizados que promueven y aceleran el crecimiento de bacterias cariogénicas o la rugosidad presente en la superficie de las restauraciones permite una mejor adhesión bacteriana (Beyth et al., 2008). O bien, que ambos factores podrían finalmente incidir en la acumulación de placa para que posteriormente los microorganismos cariogénicos que conforman el biofilm actúen sobre las resinas compuestas y puedan inducir la degradación de estas. La caries secundaria es considerada entonces, la causa más frecuente del fracaso y reemplazo de restauraciones adhesivas (Deligeorgi et al., 2001; Sarret, 2005; Astvaldsdóttir et al., 2015). Desde inicios de los noventa, se ha investigado la degradación de los materiales de resina compuesta en presencia de las enzimas salivales (Larsen et al., 1992; Finer et al., 2004). Se suma así, a los procesos mecánicos considerados durante un tiempo como únicos responsables de los fracasos de las resinas compuestas, los procesos biológicos, que hacen a las resinas y sistemas adhesivos vulnerables a fallas prematuras por degradación química del material (Delaviz et al., 2014). Siendo reportado que bacterias cariogénicas como *S. mutans* tienen la capacidad de degradar las resinas compuestas y sistema adhesivo mediado esto por la presencia de enzimas (esterasas) en la saliva. Asimismo la fuerza de unión adhesiva a dentina sufrirá degradación en el tiempo, lo que ha sido demostrado in vitro (Hashimoto et al, 2002; Armstrong et al., 2004) e in vivo (Carrilho et al., 2007).

Capa Híbrida y Fallas Asociadas

El ácido ortofosfórico al 37% en dentina elimina el *smear layer* y los *smear plugs*, aumentando la permeabilidad de la dentina entre 15 a 20 veces lo que podría afectar la adhesión, debido a la presencia del fluido dentinario que es constante en su flujo hacia el exterior desde la pulpa. La aparición de los sistemas adhesivos hidrofílicos permitió superar en parte este inconveniente (Nakabayashi et al., 1992; Van Meerbeek et al., 2003). El adhesivo devuelve su elasticidad y humectabilidad a la red

colágena colapsada y parcialmente desnaturalizada, por la pérdida de soporte inorgánico acción esto del grabado ácido (Nakabayashi et al., 1992; Pashley et al., 1993). La permeabilidad dentinaria originada por el grabado ácido sería superada por el sellado que otorga la resina adhesiva al ingresar en los túbulos dentinarios, luego que es promovida su difusión por la presencia de los primers hidrofílicos en los sistemas adhesivos, de quinta generación. Luego de la polimerización del sistema adhesivo se forma una zona de transición reforzada a la dentina denominada “capa híbrida”, la primera observación de esta fue realizada en 1952 por Kramer y Mclean definida como capa intermedia, fue descrita por primera vez en 1982 por Nakabayashi, como una matriz de resina reforzada con fibrillas de colágeno, siendo esto la base para la retención micromecánica de los sistemas adhesivos a dentina (Nakabayashi et al., 1982).

La unión a la dentina desmineralizada de los monómeros de resina fluida está constituida por dos interfaces. La mayor corresponde a la zona más superficial que es una malla de colágeno impregnada con resina. Bajo esta zona y más pequeña una banda parcialmente desmineralizada de dentina compuesta mayoritariamente por cristales de hidroxiapatita encapsulados en resina (Nakabayashi et al., 1992). La profundidad de la desmineralización y la completa o incompleta acción del monómero de resina en la zona desmineralizada, son factores que afectan la calidad de la unión a dentina. Si la profundidad de la desmineralización excede la difusión del adhesivo, quedará expuesta una zona de fibras colágenas sin soporte de hidroxiapatita, no infiltrada o no hibridizada (Pashley et al., 1992; Pashley et al., 1993; Cadenaro et al., 2009). La microfiltración dentro de la capa híbrida, es el resultado de una infiltración incompleta de la resina sobre la malla de colágeno (Hashimoto et al., 2004). Esto a su vez permite la presencia de pequeñas zonas dentro de la capa híbrida polimerizada que son ricas en agua y pobres en resina. Aunque estas zonas ricas en agua pueden ser escasas recién generada la unión, van aumentando de tamaño con el envejecimiento de la resina (Tay et al., 2003). Esto lleva a la degradación de la unión resina - dentina (nanofiltración) resultando en una disminución de la fuerza de adhesión (Sano et al., 1994; Pashley et al., 2002; Tay et

al., 2003). Así gran parte del colágeno insoluble que forma parte de la capa híbrida será reemplazado por agua por conversión de este, en péptidos solubles (Pashley et al., 2011). Como resultado, se produce una pérdida de la retención de la resina a la dentina (Carrilho et al., 2007).

En consecuencia, una fuerza de unión óptima se deriva de una completa difusión de la resina adhesiva en la dentina químicamente tratada y de una malla colágena totalmente infiltrada por el adhesivo. Varios son los factores que podrían afectar la capacidad de la resina adhesiva de penetrar adecuadamente en la dentina desmineralizada. Exposición prolongada al acondicionamiento ácido, que produce una banda de colágeno más grueso expuesto, dificultando la penetración de la resina, obteniéndose una banda de colágeno porosa en su base no protegida por la resina, lo que podría inducir a la hidrólisis del colágeno, comprometiendo así la integridad de la unión resina - dentina (Sano et al., 1994).

La capa híbrida, también es susceptible a la degradación por enzimas proteolíticas que contienen zinc y que son dependientes del calcio, conocidas como metaloproteinasas de la matriz (MMPs) (Verma et al., 2007). Estas, están presentes en la saliva humana y pueden ser secretadas por células del tejido conectivo, fibroblastos, células endoteliales, macrófagos, neutrófilos, linfocitos y odontoblastos (Tezvergil et al., 2011). Las MMPS están implicadas en muchos procesos fisiológicos incluyendo la dentinogénesis. Sin embargo, también son capaces de degradar componentes de la matriz extracelular, incluyendo fibras colágenas, glicoproteínas, fibronectina y la membrana basal (Zhang et al., 2009). Las MMPs hidrolizan las fibrillas de colágeno, en consecuencia la interface resina – dentina generada por los procedimientos adhesivos se verá comprometida. Para que esto se produzca, requieren ser activadas, estudios recientes sugieren que las MMPs de la saliva y las que se encuentran unidas a las fibras de colágeno, pueden volverse catalíticamente activas bajo condiciones ácidas (Chaussain et al., 2006; Zhang et al., 2009; Tezvergil et al., 2011). Así, un pH bajo puede alterar la conformación de la proteína e inducir la actividad catalítica. Por lo tanto, las MMPs podrán ser activadas durante el grabado

ácido, o por la producción de ácidos del biofilm bacteriano (Tezvergil et al., 2011). Las MMPs activas son capaces de hidrolizar el colágeno, poniendo en peligro la estabilidad de la unión resina- dentina lo que conlleva a la degradación de la capa híbrida (Chaussain et al., 2006).

Otros factores que influyen en la penetración de la resina y la fuerza de unión a dentina es la correcta aplicación del sistema adhesivo, el número de capas y el tiempo de aplicación para que este penetre adecuadamente a través de la red de colágeno, por lo tanto la sensibilidad de la técnica, el número de pasos involucrados y la posibilidad de una difusión incompleta de este sistema adhesivo han sido alguna de las razones que han impulsado el desarrollo de los llamados sistemas adhesivos autoacondicionantes (Tay et al., 2001; Pashley et al., 2002; Peumans et al., 2005; Van Landuyt et al., 2007).

Sistemas Adhesivos Autoacondicionantes

Los sistemas de adhesión conocidos como autoacondicionantes, tienen como objetivo simplificar el procedimiento de adhesión y al mismo tiempo evitar los pasos más críticos y más sensibles de la técnica. Siendo objetivo primordial de estos, una desmineralización más superficial de la dentina, menor incidencia de sensibilidad post operatoria, con un mayor control y la simultánea penetración del primer y adhesivo en la dentina.

El desarrollo de estos sistemas adhesivos de sexta generación en dentina, se basa en su interacción con la dentina superficial y la integración del *smear layer* el que no es disuelto por completo sino que es incorporado en la interface de unión, dejando en gran medida los túbulos obstruidos con *smear layer*, originando una capa híbrida y simultáneamente produciendo desmineralización parcial de la subsuperficie de la dentina. Primer y adhesivo penetran reduciendo la sensibilidad de la técnica, disminuyendo el número de pasos y tiempo de trabajo (Perdigao et al., 2003; Bolaños

et al., 2008). El desarrollo de estos sistemas involucra el uso de imprimadores ácidos, llamados imprimadores de pre-grabado en los que la intención primordial es la de combinar en un solo paso el acondicionamiento y la preparación del sustrato dentinario de manera simultánea (Carvalho et al., 2005).

En estos sistemas se elimina el grabado con ácido ortofosfórico de la dentina y posterior lavado y secado. El ácido es incorporado al primer, el que actúa como autoacondicionante. La evolución de estos sistemas ha sido rápida, en sus presentaciones originales de dos pasos clínicos (primer autoacondicionante + adhesivo) y en las actuales (primer/adhesivo mezclado) que se han definido como sistemas de paso único, todo en uno o séptima generación (Van Landuyt et al., 2007; Van Meerbeek et al., 2011).

Pese a sus promisorias características algunos autores sostienen, que estos sistemas serían incapaces de producir una unión confiable en dentina produciendo fallas cohesivas dentro del *smear layer* por una infiltración incompleta de este, razón por la cual, han experimentado modificaciones en su composición original, sumado a esto también que a nivel de esmalte su comportamiento sería deficiente en comparación con la técnica de grabado ácido (Tay et al., 2001; Van Landuyt et al., 2009). Algunas de las modificaciones son en función de los ácidos presentes en su composición lo que ha llevado a clasificarlos según su potencial ácido, como sistemas autograbantes suaves/leves ($\text{pH} > 2$) moderados ($\text{pH} < 2$ y > 1.1) y fuertes ($\text{pH} < 1$) (Tay et al., 2001; Van Meerbeek et al., 2011).

Surgen, entonces, dudas en relación al comportamiento clínico de estos sistemas adhesivos a nivel de dentina en relación a sus componentes ácidos.

2. Planteamiento Del Problema

Los resultados obtenidos con los sistemas adhesivos auto-acondicionantes, no han sido consistentes con las expectativas que de ellos existían, pues su comportamiento clínico parece no ser tan adecuado como en los sistemas de la generación previa (Tay et al., 2002; Sadek et al., 2005; Van Landuyt et al., 2009).

Dada las variaciones de pH que pueden presentar estos sistemas auto-acondicionantes, surge el interrogante de si aquellos con un pH bajo, son capaces de disolver completamente el *smear layer* y los *smear plugs* en el interior de los túbulos, y si forman una zona de real hibridación o no, que podría traducirse adicionalmente, en una incompleta infiltración de la estructura dentinaria, originando por lo tanto baja resistencia mecánica y poniendo en peligro la adhesión. Durante la preparación de las cavidades con instrumental rotatorio se origina la capa de *smear layer* y dependiendo de la técnica de preparación tendrá una variación significativa en tamaño y estructura. Los adhesivos de autograbado deben ser capaces de disolver el *smear layer* para obtener unión satisfactoria a la superficie dentinaria (Tay et al., 2000). En ese contexto, este tipo de adhesivos pueden ser divididos en cuanto a su pH en leves, moderados y fuertes. Se ha reportado que la efectividad de los autograbantes suaves se ve afectada por capas de *smear layer* gruesas (Ermis et al., 2008). También, se ha revelado que presentan fallas predominantemente bajo la capa híbrida después de ser sometidos a envejecimiento en agua, la causa sería una remoción insuficiente del *smear layer* por parte del autoacondicionante (Van Landuyt et al., 2010). Los sistemas todo en uno presentan menor resistencia de unión en comparación a los sistemas de múltiples pasos (Van Landuyt et al., 2009). También se ha documentado un aumento de la nanofiltración con menor eficiencia de la adhesión en el tiempo para estos sistemas (Tay et al., 2002). Los autograbadores fuertes presentan efectos más profundos en la desmineralización de la dentina. La ultraestructura producida por estos adhesivos tiene mayor similitud a la generada por los adhesivos con grabado ácido, pero la diferencia está en que los fosfatos de calcio disueltos no se lavan. Y serán inestables en un medio acuoso, comprometiendo la integridad de la interface en el tiempo (Van Meerbeek et al., 2011). A su vez, los sistemas de autograbado suave

desmineralizan la dentina sólo parcialmente, dejando una gran cantidad de cristales de hidroxiapatita (HAp) alrededor de las fibras colágenas, esto permite mantener el colágeno encapsulado y protegido frente a los procesos de degradación hidrolítica y enzimática. Entonces, la interrogante es, se puede producir una adhesión confiable a nivel dentina-resina. Para lo cual es relevante conocer las características de dicha interface.

Resulta igualmente plausible el plantear la posibilidad de que no se produzca la interacción del imprimador en la superficie del sustrato dentinario y que la capa híbrida sea delgada o bien no se forme al utilizar sistemas auto-acondicionantes de $\text{pH} > 1$ y por tanto no exista un mecanismo de real adhesión. De ahí que el propósito de este estudio sea determinar si variaciones en el pH de los sistemas autograbadores generan diferencias en las propiedades de la interface adhesiva en la unión de los biomateriales al tejido dentario y en su comportamiento en presencia de un biofilm organizado. La Tesis presentada a continuación, por lo tanto, indaga acerca de la integridad de las interfaces mediante pruebas mecánicas y de microscopía electrónica, con el objeto de verificar la funcionalidad y las características ultraestructurales de las interfaces formadas con los adhesivos autograbantes de diferente pH, pero también explora las distintas capacidades de estos adhesivos de contrarrestar la virulencia impuesta por los biofilm cariogénico en las interfaces adhesivas.

3. Bibliografía

- 1.-Armstrong SR, Vargas MA, Chung I, Pashley DH, Campbell JA, Laffoon JE, Qian F. (2004). Resin–dentin interfacial and micortensile bond strength after five-year water storage. *Oper Dent*; 29:705–12.
- 2.- Astvaldsdóttir A, Dagerhamn J, van Dijken J, Naimi-Akbar A, Sandborgh G, Tranceus S, Nilsson M. (2015). Longevity of posterior resin composite restorations in adults – A systematic review. *Journal of Dentistry*
3. - Auschill TM, Arweiler NB, Brex M, Reich E, Sculean A, Netuschil L. (2002). The effect of dental restorative materials on dental biofilm. *Eur. J. Oral Sci.*, 110, 48-53.
4. - Bayne SC, Thompson JY, Swift Jr EJ, Stamatiades P, Wilkerson M. (1998). A characterization of first-generation flowable composites. *J Am Dent Assoc.* 129(5):567–77.
5. - Beyth N, Domb A.J, Weiss E. (2007). An *in vitro* quantitative antibacterial analysis of amalgam and composite resins. *J. Dent.*, 35, 201-206.
- 6.- Beyth N, Bahir R, Matalon S, Domb AJ, Weiss EI. (2008). *Streptococcus mutans* biofilm changes surface-topography of resin composites. *Dent Mater.* 24(6):732–6.
- 7.- Bolaños, González, De Haro, Briones. (2008). Interfacial Morphology and Bond Strength of Self – Etching Adhesives to Primary Dentin with or Without Acid Etching. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials.* Published on line in Wiley InterScience.
8. - Braga RR, Ferracane JL. (2002). Contraction stress related to degree of conversion and reaction kinetics. *J Dent Res.*81:114–8.
9. -Braga RR, Ferracane JL. (2004). Alternatives in polymerization contraction stress management. *Crit Rev Oral Biol Med.* 15:176–84.
10. -Borges MA, Matos IC, Mendes LC, Gomes AS, Miranda MS. (2011). Degradation of polymeric restorative materials subjected to a high caries challenge. *Dent Mater.* 27:244-252.
11. -Bourbia M, Ma D, Cvitkovitch DG, Santerre JP, Finer Y. (2013). Cariogenic bacteria degrade dental resin composites and adhesives. *J Dent Res.*; 92 (11): 989-994.
12. -Buonocore MG. (1995). A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surface. *J. Dent Res.*; 34: 849-53.

- 13.- Cadenaro M, Breschi L, Rueggeberg FA, Suchko M, Grodin E, Agee KA, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH. (2009). Effects of residual ethanol on the rate and degree of conversion of five experimental resins. *Dent Mater*; 25:621–8.
- 14.- Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. (2005). A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. *Biomaterials*; 26:1035–42.
- 15.- Carrilho MRO, Geraldeli S, Tay FR, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, Reis AF, Hebling J, Mazzoni A, Breschi L, Pashley DH. (2007). In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res*. 86:529–33.
- 16.- Carrillo C. (2006). Dentina y adhesivos dentinarios conceptos actuales, *Review ADM*. Vol.63 N°2:45-51.
17. - Chan KHS, Mai Y, Kim H, Tong KCT, Ng D, Hsiao JCM. (2010). Review: resin composite filling. *Dental Materials*; 3(2):1228–43.
18. - Chauncey HH. (1961). Salivary enzymes. *J Am Dent Assoc*. 63:360–8
19. - Chaussain-Miller C, Fioretti G, Goldberg M, Menashi S. (2006). The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res*.85:22–32.
20. - Chen M-H. (2010). Update on dental nanocomposites. *J Dent Res*.89:549–60.
21. - Choi KK, Ferracane JL, Hilton TJ, Charlton D. (200). Properties of packable dental composites. *J Esthet Dent*. 12:216–26.
- 22.- Delaviz Y, Finer Y, Santerre JP. (2014). Biodegradation of resin composites and adhesives by oral bacteria and saliva: A rationale for new material designs that consider the clinical environment and treatment challenges. *Dentals materials*. 30: 16-32.
23. - Deligeorgi V, Mjör IA, Wilson NH. (2001). An overview of reasons for the placement and replacement of restorations. *Prim Dent Care*; 8(1):5–11.
- 24.- Ermis RB, De Munck J, Cardoso MV, Coutinho E, Van Landuyt KL, Poitevin A, et al. (2008). Bond strength of self-etch adhesives to dentin prepared with three different diamond burs. *Dent Mater*; 24:978–85.
25. - Feilzer AJ, De Gee AJ, Davidson CL. (1987). Setting stress in composite resin in relation to configuration of the resoration. *J Dent Res*. 66:1636–9.
26. - Finer Y, Santerre JP. (2004). The influence of resin chemistry on a dental composite's biodegradation. *J Biomed Mater Res A*; 69(2):233–46.

27. - Fusayama T. (1980). News Concepts in operative dentistry. Tokyo: Quintessence Publishing Co., Inc.; 61 – 156.
- 28.- Hashimoto M, H. Ohno, H. Sano, F.R. Tay, M. Kaga and Y. Kudou et al. (2002). Micromorphological changes in resin-dentin bonds after 1 years of water storage, *Journal of Biomedical Materials Research*. Vol. 63: 306-311.
- 29.- Hashimoto M, Ito S, Tay FR, Svizero NR, Sano H, Kaga M, Pashley DH. (2004). Fluid movement across the resin–dentin interface during and after bonding. *J Dent Res*. 11: 843–8.
- 30.- Hashimoto M, AJ. De Gee, M. Kaga and, AJ. Feilzer. (2006). Contraction stress in dentin adhesive bonded to dentin, *Journal of Dental Research*. Vol. 85: 728- 732.
- 31.- Hashimoto M, A.J. de Gee, A.J. Feilzer. (2008). Polymerization contraction stress in dentin adhesives bonded to dentin and enamel. *Dental Materials*. Vol. 24: 1304-1310.
- 32.- Hérvas-García A, Martínez-Lozano MA, Cabanes-Vila J, Barjau- Escribano A, Fos-Galve P. (2006). Composite resins. A review of the materials and clinical indications. *Med Oral*. Vol. 11: 215 -220.
- 33.- Karantakis P, Helvatjoglou–Antoniades M, Theodoridou-Pahini S, Papadogiannis Y. (2000). Fluoride release from three glass ionomers, a compomer and a composite resin in water, artificial saliva, and lactic acid. *Oper Dent*. 25:20–5.
- 34.- Kermanshahi S, Santerre JP, Cvitkovitch DG, Finery Y. (2010). Biodegradation of resin–dentin interfaces increases bacterial microleakage. *J Dent Res*. 89(9):996–1001.
- 35.- Kleverlaan CJ, Feilzer AJ. (2005) Polymerization shrinkage and contraction stress of dental resin composites. *Dent. Mater*. 21,1150-1157
- 36.- Labella R, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Vanherle G. (1999). Polymerization shrinkage and elasticity of flowable composites and filled adhesives. *Dent Mater*. 15:128–37.
- 37.- Larsen IB, Freund M, Munksgaard EC. (1992). Change in surface hardness of BisGMA/TEGDMA polymer due to enzymatic action. *J Dent Res*. 71(11):1851–3.
- 38.- Mjör IA. (1997). The reasons for replacement and the age of failed restorations in general dental practice. *Acta Odontol Scand*, 55:58-63.
- 39.- Mjör IA, Moorhead JE, Dahl JE. 2000). Reasons for replacement of restorations in permanent teeth in general dental practice. *Int Dent J*, 50:361-6.

- 40.- Nakabayashi N, Ashizawa M, and Nakamura M. (1992). Identification of a resin – dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo durable bonding to vital dentin. *Quintessence International*. Vol. 23: 135- 141.
- 41.- Nakabayashi N, Kojima K, and Masuhara E. (1982). The promotion of adhesion by infiltration of monomers into tooth substrates. *Journal Biomedical Mater Sci*. 16: 265- 273
- 42.- Netuschil L, Vohrer KG, Riethe P, Kasiuff Z, Brex M. (1996). Antibacterial effects of amalgam on mutans streptococci in an in vitro biofilm test procedure. *Acta Stomatol Belg*. 93(2):73–8.
- 43.- Pashley D, (1990). Interactions of dental materials with dentin in proceedings of conference on enamel dentin- pulp.bone- periodontal. *Dental Materials*. Vol.3: 55 - 73.
- 44.- Pashley DH, Horner JA, Brewer PO. (1992). Interactions of conditioners on the dentin surfaces. *Oper Dent*;17(Suppl 5):127–50.
- 45.- Pashley DH, Ciucchi B, Sano H. (1993). Permeability of dentin to adhesive agents. *Quintessence Int*; 24:618–31
- 46.- Pashley D, Yoshiyama M, Tay F. (2002). Two modes of nanoleakage Expression in Single- Step Adhesives. *Journal of Dental Research* Vol. 81(7): 472-476
- 47.- Pashley D H., Franklin R. Tay, Lorenzo Breschi, Leo Tjäderhane, Ricardo M. Carvalho, Marcela Carrilho, Arzu Tezvergil-Mutluay. (2011). State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dental Materials* 27; 1-6.
- 48.- Perdigao J, Geraldeli S, Hodges JS. (2003). Total-etch versus self-etch adhesive: effect on postoperative sensitivity. *J Am Dent Assoc*;134:1621–9
- 49.- Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. (2005). Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dent Mater*; 21:864–81.
- 50.- Peutzfeldt A. (1997). Resin composites in dentistry: the monomer systems. *Eur J Oral Sci*. 105:97–116.
- 51.- Peutzfeldt A, and E. Asmussen. (2004). Determinants of in vitro gap formation of resin composites. *Journal of Dentistry*. Vol. 32: 109-115.
- 52.- Sadek FT, Goracci C, Cardoso PE, Tay FR, Ferrari M. (2005). Microtensile bond strength of current dentin adhesives measured immediately and 24 hours after application. *J Adhes Dent*; 7:297–302.

- 53.- Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. (1994). Microporous dentin zone beneath resin – impregnated layer. *Operative Dentistry*. Vol. 19: 599 – 664.
- 54.- Sarrett DC. (2005). Clinical challenges and the relevance of materials testing for posterior composite restorations. *Dent Mater*; 21:9–20.
- 55.- Satsangi N, Rawls HR, Norling BK. (2005). Synthesis of low shrinkage polymerizable methacrylate liquid crystal monomers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*; 74B:706–11.
- 56.- Shokati B, Tam L, Santerre JP, Finer Y. (2010). Effect of salivary esterase on the integrity and fracture toughness of the resin–dentin interfaces. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 94:230–7.
- 57.- Silikas N, Eliades G, Watts DC. (2000). Light intensity effects on resin-composite degree of conversion and shrinkage strain. *Dent Mater*. 16:292–6.
- 58.- Stansbury JW. (2000). Curing dental resins and composites by photopolymerization. *J Esthet Dent*. 12:300–8.
- 59.- Stewardson D, Thornley P, Bigg T, Bromage C, Browne A, Cottam D. (2010). The survival of class V restorations in general dental practice: Part 1, baseline data. *Br Dent J*, 208: 1-5.
- 60.- Tay FR, Carvalho R, Sano H, Pashley DH. (2000). Effect of smear layers on the bonding of a self-etching primer to dentin. *J Adhes Dent*. 2:99–116.
- 61.- Tay F, Pashley D. (2001). Agressiveness of contemporary self etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smears layers. *Dental Materials*. Vol. 17: 296-308.
- 62.- Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. (2002). Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res*. 81:472–6.
- 63.- Tay FR, Hashimoto M, Pashley DH, Peters MC, Lai SCN, Yiu CKY, Cheong C. (2003). Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. *J Dent Res*. 82:537–41.
- 64.- Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Uchiyama T, Imazato S, Mutluay MM. (2011). The inhibitory effects of quaternary ammonium methacrylates on soluble and matrix-bound MMPs. *J Dent Res*. 90(4):535–40.
- 65.- Vaidyanathan J, Vaidyanathan TK. (2001). Flexural creep deformation and recovery in dental composites. *J Dent*. 29: 545–51.
- 66.- Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J. (2008). Recent advances in the theory and mechanism of adhesive resin bonding to dentin : a critical review. *Journal of*

Biomedical Materials Research Part B; Applied Biomaterials. Published online in Wiley Inter Science.

67.- Van Dijken JW, Sjöstrom S. (1991). The effect of glass ionomer cement and composite resin fillings on marginal gingiva. *J Clin Periodontol.* 18(3):200–3.

68.- Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, et al. (2003). Buonocuore memorial lectura. Adhesión to enamel and dentine: Current status and future challenges. *Operative Dentistry.* Vol. 28: 135 – 215.

69.- Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt K.L. (2011). State of the art of self-etch adhesives. *Dental Materials* 27: 17-28

70.- Van Landuyt K, Snauwaert J, Munck J, Peumons M, Yoshida Y, Lambrechts P, Van Meerbeek B. (2007). Systematic review of the chemical composition of contemporary Dental adhesive . *Biomaterials* Vol. 28: 3757 – 3785.

71.- Van Landuyt KL, Mine A, De Munck J, Jaecques S, Peumans M, Lambrechts P, et al. (2009). Are one-step adhesives easier to use and better performing? Multifactorial assessment of contemporary one-step self-etching adhesives. *J Adhes Dent.* 11:175–90.

72.- Van Landuyt KL, De Munck J, Mine A, Cardoso MV, Peumans M, Van Meerbeek B. (2010). Filler debonding & subhybrid-layer failures in self-etch adhesives. *J Dent Res.* 89:1045–50.

73.- Verma RP, Hansch C. (2007). Matrix metalloproteinases (MMPs): chemical–biological functions and (Q) SARs. *Bioorg Med Chem.* 15(6):2223–68.

74.- Xu HHK, Weir MD, Sun L, Moreau JL, Takagi S, Chow LC, et al. (2010). Strong nanocomposites with Ca, PO₄, and F release for caries inhibition. *J Dent Res.* 89:19–28.

75.- Zhang SC, Kern M. (2009). The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *Int J Oral Sci;* 1(4):163–76.

76.- Zhu X, Zhou Y, Yan D. (2011). Influence of branching architecture on polymer properties. *J Polym Sci B Polym Phys.* 49(18):1277–86.

4. Hipótesis

Los adhesivos autoacidificantes con pH menores o iguales a uno presentan mejores propiedades adhesivas, en general, que adhesivos de mayor pH.

5. Objetivos

Objetivo General

Estudiar las propiedades adhesivas de los sistemas autoacondicionantes según su pH mediante pruebas mecánicas y biológicas *in vitro*.

Objetivos Específicos

- 1.- Evaluar la microfiltración marginal y la resistencia traccional, de sistemas adhesivos autoacondicionantes de diferente pH.
- 2.- Analizar la ultraestructura microscópica de la dentina tratada con sistemas adhesivos autoacondicionantes de distinto pH.
- 3.- Estudiar la capacidad de los sistemas adhesivos autoacondicionantes de contrarestar la acción de un biofilm cariogénico.

CAPÍTULO 1

Propiedades Mecánicas de los Sistemas Adhesivos Según pH

6.1 Resumen

Objetivo: El presente estudio tiene como objetivo evaluar las propiedades mecánicas de los sistemas adhesivos autograbantes según su pH. **Métodos:** Para evaluar la microfiltración marginal se prepararon cavidades OM y OD en dentina media de 80 molares humanos sanos y fueron divididos aleatoriamente en 4 grupos (n=20). Para evaluar resistencia traccional 80 molares sanos fueron cortados horizontalmente para exponer dentina media y fueron divididos aleatoriamente en 4 grupos (n=20). Adper Single Bond 2 (SB) (pH 4,3) (3M ESPE St Paul, MN, USA) y tres sistemas autoacondicionantes de diferente pH. Go! (Go), pH leve (2,05) (SDI, Victoria, Australia), Adper Prompt L-Pop (PLP), pH moderado (1,2) (3M ESPE), Xeno III (XE), pH fuerte (0,98) (Dentsply, Konstanz, Germany). El pH se midió con pH metro digital. Se restauraron con resina compuesta (Filtek Z350 XT A2, 3M ESPE). Los especímenes fueron termociclados por (250 ciclos entre 5 - 55°C) y almacenadas la mitad de las muestras de cada grupo en saliva artificial a 37°C por 3 meses. El grado de microfiltración se observó con un microscopio óptico eléctrico a 40x en una escala de 0 a 4. La resistencia traccional se midió con la aplicación de fuerzas de tracción sobre la resina, las fallas clasificadas como adhesivas, cohesivas o mixtas fueron analizadas mediante microscopía electrónica a 40x. En ambos casos un observador calibrado ($Kappa=0,85$) clasificó los grados de microfiltración y la fallas asociadas a tracción. **Resultados:** No hubo diferencias entre los adhesivos, excepto el adhesivo (SB) mostró mayor resistencia traccional inmediata ($p=0,028$) y mediata ($p=0,003$) que (Go). El mayor porcentaje de fallas adhesivas fueron para (Go) 60% y 70% respectivamente. Para microfiltración marginal no hubo diferencias entre los adhesivos, excepto que (SB) mostró mayor microfiltración inmediata que (Go) ($p=,001$) y mayor microfiltración mediata que (XE) ($p=0,001$). **Conclusión:** Los sistemas adhesivos autograbadores no poseen mayores valores de microfiltración marginal que los adhesivos con grabado previo independiente de su pH. En relación a la resistencia traccional existe un claro predominio del sistema adhesivo convencional con grabado previo sobre el sistema adhesivo de pH leve.

Palabras claves: Self-etch adhesives, Ultimate tensile strength, Systematic review, Adhesive monomers, Dentin, Dental adhesives.

6.2 Abstract

Aim: The present study is intended to assess mechanical properties of self-etching adhesives systems according to their pH. **Methods:** To assess marginal microleakage occluso-mesial and occluso-distal cavities were made in median dentin in 80 sound human molars and randomly assigned to 4 groups (n=20). To assess tensile strength 80 sound human molars were sectioned horizontally exposing median dentin and randomly assigned to 4 groups (n=20). Adper Single Bond 2 (SB) (pH 4.3) (3M ESPE St Paul, MN, USA) and three different self-etching systems: Go! (Go), mild pH (2.05) (SDI, Victoria, Australia), Adper Prompt L-Pop (PLP), moderate pH (1.2) (3M ESPE) and Xeno III (XE), strong pH (0.98) (Dentsply, Konstanz, Germany) were used. pH was measured with a digital pH meter. Teeth were restores with composite resin (Filtek Z350 XT A2, 3M ESPE). Specimens were thermocycled for 250 cycles (5-55°C); half of the sample was stored in artificial saliva at 37°C for 3 months. Levels of microleakage were observed through and optic microscope 40x, using a 0 to 4 scale. Tensile strength was measured over a composite resin specimen; failures were determined as adhesive, cohesive and mixed with an optic microscope (40x). In both cases, a calibrated examiner (Kappa=0.85) assessed the nevels of microleakage and tensile strength. **Results:** No differences were observed between adhesives, except SB, which showed higher immediate (p=0.028) and mediate (p=0.003) tensile strength than Go. The higher percentage for adhesive failures were seen for Go! (60% and 70%, respectively). For marginal microleakage there were no differences among adhesives, except SB, which showed higher immediate microleakage than Go (p=0.001) and higher immediate microleakage than XE (p=0.001). **Conclusion:** Self-etching adhesives do not exhibit higher levels of microleakage tan etch and rinse adhesives, independtly of their pH. Regarding tensile strength, conventional etch and rinse adhesive performed significantly higher than the mild pH self-etch system

Keywords: Self-etch adhesives, Ultimate tensile strength, Systematic review, Adhesive monomers, Dentin, Dental adhesives.

6.3 Introducción

Las restauraciones de los dientes anteriores y posteriores en base a resina compuesta corresponde a una de las acciones clínicas que con mayor frecuencia realiza el odontólogo general en su práctica clínica (Stewardson et al., 2010; Da Rosa et al., 2006; Gaengler et al., 2001). La restauración de dientes en base a este material reviste dificultades asociadas a la técnica y a las características propias del material restaurador. Casi el 70% de las restauraciones de resina compuesta son confeccionadas para reemplazar restauraciones que han fracasado. La caries secundaria y la fractura del material son las principales causas de este reemplazo (Bourbia et al., 2013). El principal desafío para los sistemas adhesivos y la técnica adhesiva es proporcionar una unión eficaz a los tejidos duros del diente considerando su diferente naturaleza. La unión a esmalte ha demostrado ser más confiable y duradera, mientras que la unión a dentina resulta más compleja por, la presencia de humedad, colágeno y túbulos dentinarios, que pueden influir en la calidad de la adhesión (Mauro et al., 2012). De esa forma, las fallas adhesivas pueden ocasionar sensibilidad postoperatoria, microfiltración marginal y caries secundaria (Van Meerbeek et al., 2011).

En la actualidad existen básicamente dos filosofías para lograr adhesión; la técnica de acondicionamiento previo o grabado total y los sistemas de autograbado o autoacondicionado de los tejidos del diente. Los sistemas adhesivos con grabado previo, son los más utilizados, pero han sido cuestionados por problemas clínicos asociados a fallas adhesivas y sensibilidad post-operatoria (Tay et al., 2002; Perdigao et al., 2003; Van Meerbeek et al., 2011). La sensibilidad se produce cuando la fuerza adhesiva de la resina al esmalte supera la de la dentina y parte del material se desprende del piso pulpar, dejando un espacio entre la resina y la dentina, lo que ocasiona que las fuerzas hidráulicas dentro de esta brecha llenen de líquido la interface y los túbulos subyacentes, estimulando así a las terminaciones nerviosas de la pulpa, (Opdam et al., 1998). La pérdida completa del *smear layer* producto del grabado ácido permite la libre difusión del fluido tubular, fenómeno que se ve agravado cuando se realiza un secado excesivo de la superficie acondicionada,

(Manhart et al., 2001). La desmineralización a grandes profundidades generada por el grabado ácido puede conducir a una impregnación incompleta del adhesivo, lo que puede predisponer a la degradación de la unión resina dentina (nanofiltración) y como resultado de esto disminución de la fuerza adhesiva (Sano et al., 1994; Pashley et al., 2002; Vaidyanathan et al., 2008). Otros factores adicionales pueden participar en la inadecuada impregnación del adhesivo, tales como el pH, concentración, viscosidad y tiempo de aplicación del ácido (Swift, 2002). La dentina acondicionada no infiltrada puede ser susceptible a un colapso de la malla de colágeno por la pérdida de soporte inorgánico (Van Meerbeek et al., 2011), lo que podría inducir a la hidrólisis del colágeno expuesto, comprometiendo la integridad de la adhesión (Sano, 1994; Swift, 2002).

La alta sensibilidad en la técnica adhesiva con grabado previo ha llevado al desarrollo de los sistemas adhesivos de autograbado (Tay, Pashley, 2001; Pashley, 2002; Van Landuyt Van Meerbeek, Yoshida, Peumons, 2007). El desarrollo de estos sistemas adhesivos autoacondicionantes se basa en su integración al *smear layer* el que es incorporado en la interface de unión, originando una capa híbrida y simultáneamente produciendo desmineralización parcial donde primer y adhesivo penetran simultáneamente reduciendo la sensibilidad de la técnica, disminuyendo el número de pasos y tiempo de trabajo (Bolaños et al., 2008). La técnica se asocia además a ausencia, o al menos, a una menor incidencia de sensibilidad post-operatoria (Tay et al., 2002; Perdigao et al., 2003). La evolución de estos sistemas ha sido rápida en sus presentaciones de dos pasos (sexta generación) y todo en uno (séptima generación) (Van Landuyt et al., 2007). Pese a sus promisorias características algunos autores sostienen, que estos sistemas serían incapaces de producir una unión confiable en dentina, produciendo fallas cohesivas dentro del *smear layer* por una infiltración incompleta de este. Adicionalmente, los sistemas autoacondicionantes muestran un comportamiento deficiente en esmalte, en comparación con la técnica de grabado previo (Pashley, 2002). Debido a eso se han realizado modificaciones a la composición original. Dichas modificaciones son en función de los ácidos presentes. Según su potencial ácido, los sistemas autoacondicionantes se clasifican en: leves ($\text{pH} > 2$), moderados ($\text{pH} < 2$ y > 1.1) y

agresivos ($\text{pH} < 1$) (Tay, Pashley 2001; Sánchez et al., 2004; Salz et al., 2006; Van Meerbeek et al., 2011). Es posible que el comportamiento clínico de estos sistemas adhesivos a nivel de dentina sea diferente en relación a la composición y concentración de sus componentes acídicos (Pashley, 2002). Dada las variaciones de pH que pueden presentar estos sistemas auto-acondicionantes, es esperable que aquellos con un pH menor o igual a 1 disuelvan completamente el *smear layer* y los *smear plugs* en el interior de los túbulos, pero sin formar una zona de real hibridación, que podría traducirse adicionalmente en una incompleta infiltración de la estructura dentinaria, originando por lo tanto, baja resistencia mecánica y poniendo en peligro la adhesión.

Resulta igualmente plausible el plantear la posibilidad de que no se produzca la interacción del imprimador en la superficie del sustrato dentinario y que la capa híbrida sea delgada o bien no se forme al utilizar sistemas auto-acondicionantes leves y moderados y por tanto no exista un mecanismo de real adhesión. De ahí que el propósito de este estudio sea determinar si variaciones en el pH de los sistemas autograbadores generan diferencias en la unión y comportamiento de los sistemas adhesivos al tejido dentario, evaluando para ello la microfiltración marginal y la resistencia traccional de diferentes sistemas adhesivos autoacondicionantes.

6.4 Metodologías

Preparación de las muestras

Para este estudio *in vitro* se seleccionaron 160 terceros molares humanos con indicación de extracción por ortodoncia, los que debían cumplir con los siguientes criterios de inclusión: Ausencia de lesiones de caries, obturaciones, defectos estructurales, superficie oclusal mayor a 16,0 mm² y desarrollo radicular completo. Los dientes se prepararon con instrumental manual de periodoncia (Jacket N° 30-31, H-Friedy, USA) y ultrasonido (Cavitron Bobcat Pro 115u, Dentsply, USA) para el retiro de restos orgánicos. Los dientes fueron almacenados a temperatura ambiente por un periodo de 60 días en cloruro de sodio al 0,9% (Lab. Sanderson S.A, Santiago, Chile) renovando la solución cada siete días. 80 de los terceros molares seleccionados fueron utilizados para evaluar resistencia traccional y 80 dientes para evaluar microfiltración marginal.

Procedimientos Adhesivos.

En el estudio se utilizaron cuatro sistemas adhesivos: adhesivo con grabado previo o grabado total (Grupo control) Adper Single Bond 2 (SB) (pH 4,3) (3M ESPE St Paul, MN, USA) y tres sistemas autoacondicionantes de diferente pH (Grupos experimentales). Go! (Go), pH leve (2,05) (SDI, Victoria, Australia), Adper Prompt L-Pop (PLP), pH moderado (1,2) (3M ESPE), Xeno III (XE), pH agresivo (0,98) (Dentsply, Konstanz, Germany).

Grupos experimentales.

Para evaluar la microfiltración marginal 80 molares fueron divididos aleatoriamente en 4 grupos con 20 dientes cada uno, correspondientes al grupo control y a los tres sistemas adhesivos autograbadores en estudio. Para evaluar resistencia traccional 80 molares fueron divididos aleatoriamente en 4 grupos con 20 dientes cada uno. Antes de proceder con el proceso restaurador, fue medido el pH de cada uno de los sistemas adhesivos por medio de un pHmetro (HI 9126, HANNA Instruments, USA).

Grupo I Control: Sistema adhesivo convencional, SB. Se aplicó el acondicionamiento con ácido ortofosfórico al 37% (Etchant scotch Bond, 3M ESPE) por 15 segundos, se lavó con agua en spray por 30 segundos y se secó con trozos de papel absorbente. A continuación se aplicó la primera capa del sistema adhesivo SB, se sopló suavemente con aire por 5 segundos y se aplicó la segunda capa fotopolimerizando por 10 segundos con lámpara de fotocurado halógena (Elipar 2500, 3M ESPE, MN, USA) a una potencia de 700 mW/cm^2 medido con un radiómetro digital (Bluedent, Plovdiv, Bulgaria). Se aplicaron incrementos de resina compuesta de menos de 2 mm (Filtek Z350 XT, 3M ESPE) hasta completar la preparación respectiva y se fotopolimerizó por 20 segundos cada incremento. Terminado el procedimiento las preparaciones se dejaron sumergidas en suero fisiológico al 0,9% a temperatura ambiente.

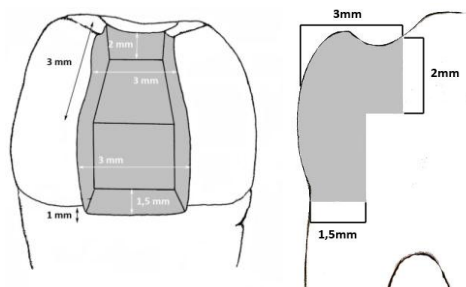
Grupo II: Sistema adhesivo autograbante Go. Se eliminó la humedad con papel absorbente. A continuación se aplicó el sistema adhesivo en una capa única y se dejó actuar por 20 segundos, se sopló suavemente con aire por 5 segundos y se fotopolimerizó por 10 segundos con lámpara de fotocurado halógena. Luego de esto se continuó con la aplicación de incrementos de resina de igual forma que el protocolo descrito para el grupo control.

Grupo III: Sistema adhesivo autograbante PLP. Se procedió a la aplicación del sistema adhesivo según especificaciones de la guía técnica del material. Se presionó el material del reservorio rojo dentro del compartimento amarillo, este luego se vertió a la sección azul y desde esta, se mezcló el conjunto por 5 segundos. Se consideró una apropiada activación del adhesivo si la punta del aplicador se encontraba ligeramente teñida de amarillo. Se aplicó sobre la superficie dentinaria por 15 segundos, se sopló 5 segundos y se fotopolimerizó por 10 segundos. Se continuó con los incrementos de resina compuesta de igual forma que el protocolo utilizado en el grupo control.

Grupo IV: Sistema adhesivo autograbante XE. Se preparó el adhesivo y se aplicó la técnica, según las indicaciones del fabricante. Se mezcló una gota del primer con una del adhesivo en proporción 1:1 por 5 segundos. Se frotó la superficie dentinaria con un microaplicador y se dejó actuar por 20 segundos para luego soplar por 2 segundos y fotopolimerizar por 10 segundos. Obtenida una superficie brillante se continuó con los incrementos de resina según protocolo descrito para el grupo control.

Evaluación de la microfiltración.

80 dientes fueron utilizados. Se prepararon 2 cavidades clase II (OD) y (OM) en cada diente, separadas por un istmo de 1,5 mm. En esmalte se utilizó una piedra cilíndrica diamantada de grano fino (835/012 FG, SS White, New Jersey, USA) de alta velocidad. En dentina se continuó con fresa de carbide cilíndrica de baja velocidad (#558L-012 RA, SS White, New Jersey, USA). Cada cajón oclusal se talló con 2 mm de profundidad, 3 mm de ancho vestibulo-lingual y 3 mm de largo desde el rodete marginal hacia el centro. Las cajas proximales se ubicaron 1 mm gingival al límite amelocementario con un ancho vestibulo-lingual de 3 mm y profundidad mesio-distal de 1,5 mm. Todos los límites internos de la preparación se ubicaron en dentina media. El instrumental rotatorio se recambió cada ocho cavidades talladas. Las cavidades fueron realizadas por un operador previamente entrenado, estandarizadas mediante un calibrador digital (Mitutoyo Corp, Japón) y verificadas por un segundo operador.



Esquema 1. Vista Proximal y lateral para Ilustrar las Dimensiones de las Preparaciones

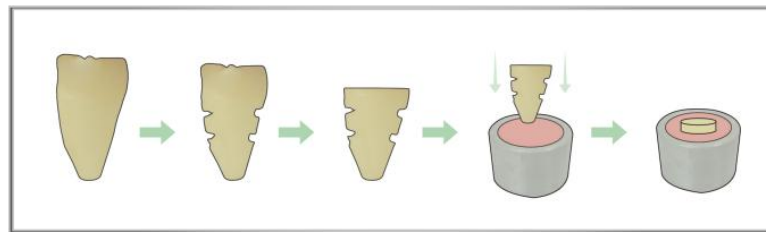
Las 80 preparaciones ordenadas y categorizadas según sistema adhesivo, fueron almacenadas en agua destilada a temperatura ambiente por 24 horas. Posterior a ese periodo de tiempo se retiraron de la solución y fueron secados con aire, para ser pulidas con la serie de discos Sof-lex (3M ESPE, St Paul, MN, USA). Todos los especímenes fueron termociclados por 250 ciclos entre 5°C – 55°C. De las 80 muestras procesadas, se tomaron 10 de cada grupo en estudio (n=40) para ser almacenadas en saliva artificial (Recetario Magistral, Farmacias Ahumada S.A., Talca, Chile), en estufa (Mettler, modelo 600, Buchenbach, Germany) a 37°C por un período de 90 días con cambios semanales del medio líquido y control de la temperatura. Las 40 muestras restantes fueron sometidas a pruebas de microfiltración inmediata.

Las preparaciones fueron selladas en sus ápices con monómero autocurable de metacrilato de metilo (Marche, Santiago, Chile) y cubiertos en su totalidad con 3 capas de barniz de uña (Xtreme Wear, Sally Hansen, USA) excepto 1 mm alrededor de la unión resina-diente en el margen cervical de la preparación. Para luego ser sumergidas en solución de azul de metileno al 0.2% de pH 3,67 (Laboratorio Valma, Santiago, Chile) y guardadas en una estufa (Mettler) por 48 horas a 37°C (Williams et al., 2002). Se hemisectó longitudinalmente el diente en sentido mesio-distal mediante la utilización de discos de diamante (Komet 918B, Lemgo, Germany) y se observó el grado de microfiltración con un microscopio óptico eléctrico a 40x (Olympus modelo CX21, Tokio, Japón). Un observador calibrado (Kappa= 0,85) clasificó los grados de microfiltración desde el margen cervical en una escala de 0 a 4. Donde 0 = No existe penetración del colorante, 1 = Penetración del colorante es menor o igual a la mitad de la pared gingival, 2 = Penetración del colorante sobrepasa la mitad de la pared gingival sin alcanzar la pared axial, 3 = Penetración del colorante compromete la pared axial pero no sobrepasa la mitad de esta, 4= Penetración del colorante compromete más de la mitad de la pared axial.

Determinación de la resistencia traccional.

A cada molar se le realizó desgaste de su cara oclusal con piedra diamantada cilíndrica N°14 (KG Sorensen, Sao Paulo, Brasil), lográndose la completa

eliminación del esmalte, se obtuvo una superficie plana, perpendicular al eje axial del diente y ubicada en dentina media (Yang B. et al, 2006; Hikita K. et al, 2006). Se procedió al tallado de ranuras de 1,5 mm de profundidad sobre la superficie radicular, con piedra diamantada cilíndrica N° 8 (KG Sorensen, Sao Paulo, Brasil) como medio de retención. Las superficies dentinarias fueron pulidas con discos Sof-lex de abrasividad decreciente (3M ESPE St Paul, MN, USA) y almacenadas en suero fisiológico al 0,9% por 24 horas. (Franklin R. Tay, David H. Pashley. 2001) (F.R Tay, D.H. Pashley and M. Yoshiyam, 2002; Sánchez, et al, 2004). Los dientes fueron sumergidos hasta su límite amelocementario, en un cilindro de acero inoxidable previamente envasinado de 21 mm de diámetro externo, 16mm de diámetro interno y 13mm de alto, utilizando en su interioracrílico de autopolimerización para su fijación, (Marche, Santiago, Chile) el que fue dosificado en una proporción de 3,01 gr polvo/1,15 ml de líquido, para lo cual se usó una balanza digital (Sartorius AG Goettingen, Germany) y una jeringa hipodérmica (BD Plastipak, New Jersey, USA).

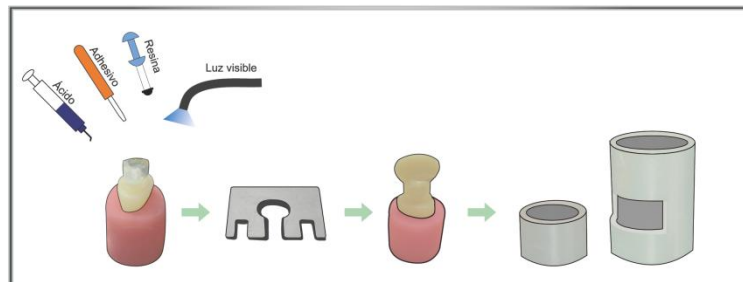


Esquema 2. Diseño experimental

Con la ayuda de un tangenciógrafo (Mestra, N° 25519), se inmovilizaron los dientes, uniéndolos a la varilla analizante, dejando la superficie oclusal de los dientes paralela a la platina, con esto se obtuvo la probeta acrílica de tamaño adecuado para ser colocada en la mesa de fijación de la máquina para ensayos Instrón (Modelo ID 4411Instrón Corp Canton, MA, USA). Los 80 dientes sumergidos en sus respectivas probetas de acrílico se dividieron al azar en cuatro grupos con un total de 20 dientes en el grupo control y 20 dientes para cada uno de los sistemas adhesivos en estudio. Antes de iniciar las diferentes técnicas adhesivas se midió el pH de los sistemas a utilizar en este estudio, por medio de un pHmetro (HI 9126, HANNA Instruments, USA).

Se confeccionaron 80 dispositivos de goma transparente de 5 mm de alto, 6.09 mm de diámetro externo y 3.95 mm de diámetro interno aproximadamente (ASA DENTAL Marlia, Italia). Cada dispositivo fue ubicado sobre la superficie dentinaria previamente acondicionada con los distintos sistemas adhesivos en estudio y en su interior se depositaron incrementos de resina compuesta para confeccionar un vástago sobre el cual posteriormente se aplicaron las fuerzas de tracción.

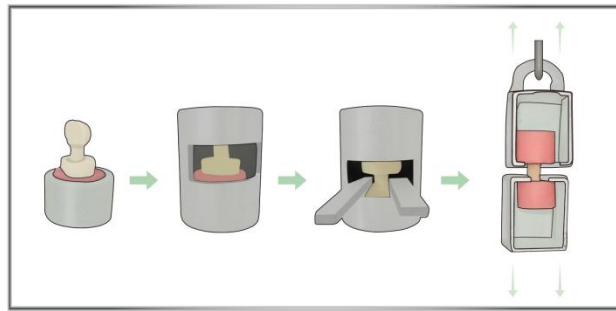
Tratamiento de la dentina con los adhesivos. Se posicionó el dispositivo de goma transparente sobre la dentina acondicionada y se aplicaron los incrementos de los distintos sistemas adhesivos en estudio (SB, Go, PLP y XE) acorde a la técnica descrita para la microfiltración, en espesores de menos de 2 mm de resina compuesta (Filtex Z350 XT, 3M ESPE) en su interior con técnica incremental y se fotopolimerizó por 20 segundos con lámpara de fotocurado halógena. El último incremento no fue polimerizado e inmediatamente se posicionó con la ayuda del tangenciógrafo la parte superior del vástago, que correspondió a un óvalo de resina fabricado sobre un molde de acero inoxidable ovalado, de 3 mm de espesor. Se colocó el óvalo en contacto con la resina y se fotopolimerizó por 20 segundos por ambos lados. Los especímenes terminados en forma de T de 5x5 mm en la base sobre dentina y 18 mm de longitud fueron almacenados en suero fisiológico al 0,9% por 72 horas, previo retiro del dispositivo de goma transparente.



Esquema 3. Diseño experimental

El extremo libre del vástago confeccionado en resina se introdujo en acrílico contenido en un segundo cilindro metálico previamente cubierto en su interior con

vaselina sólida (Reutter, Santiago, Chile) a una distancia de 3 mm de su unión con el diente, se determinó esta posición por dos placas de aluminio interpuestas. Ambos cilindros de acero inoxidable fueron contenidos por un dispositivo o paralelizador de aluminio de 24 mm de diámetro externo, 21 mm de diámetro interno y 32 mm de alto, al cual previamente se le colocó una delgada capa de vaselina sólida para permitir un correcto desplazamiento de los cilindros metálicos en su interior. Se obtuvo un vástago de resina totalmente paralelo a un eje axial único unido a las respectivas probetas de acrílico de cada lado para posicionar los especímenes en la máquina de ensayos Instrón (Modelo ID 4411 Instrón Corp. Canton, MA, USA).



Esquema 4. Diseño experimental

Todos los especímenes fueron termociclados por 250 ciclos entre 5°C – 55°C. De las 80 muestras procesadas, se tomaron 10 de cada grupo en estudio (n=40) para ser almacenadas en saliva artificial (Recetario Magistral, Farmacias Ahumada S.A., Talca, Chile), en estufa (Memmert, modelo 600, Buchenbach, Germany) a 37°C por un período de 90 días con cambios semanales del medio líquido y control de la temperatura. Las 40 muestras restantes fueron sometidas a pruebas de resistencia traccional inmediata.

Para la medición de la resistencia a la tracción todos los especímenes fueron ensayados en una máquina Instrón versión 5.2 (Modelo ID 4411 Instron Corp. Canton, MA, USA) usada con una velocidad de cabezal de 0.05 cm/min con una celda de carga de 200 Kg de fuerza a 23°C y una humedad relativa del 50%.

Para observar el tipo de falla las muestras fueron analizadas con lupa eléctrica a 40x (Olympus, Modelo CX21, Tokio, Japón). Un observador calibrado

intraexaminador ($Kappa= 0,85$) clasificó el tipo de falla como adhesiva, cohesiva o mixta según las características de la superficie dentinaria.

Análisis estadístico

El análisis de los datos de microfiltración marginal entre los distintos sistemas adhesivos se realizó con el test Chi cuadrado con nivel de significancia del 5% ($p \leq 0,05$) en el programa SPSS statistics 14.0 para Windows. Los datos de resistencia traccional fueron analizados con ANOVA de una vía y para comparar medias y establecer diferencias entre los cuatro grupos se realizó la prueba post-hoc de Tukey. Se utilizó un valor de significancia estadística del 95% ($p \leq 0,05$) en todas las pruebas en el programa SPSS 14,0 para Windows. La variable dependiente fue la resistencia a la fuerza de tracción correspondiendo a una variable cuantitativa continua, donde la medida utilizada fue el Megapascal (MPa) y además el tipo de falla como, variable cualitativa (Adhesiva, Cohesiva, o Mixta). Las variables independientes fueron los tratamientos adhesivos utilizados.

6.5 Resultados

Los resultados obtenidos para las mediciones de pH de cada sistema adhesivo utilizado y la comparación con los valores entregados por los fabricantes se resumen en la Tabla N° 1. Se observa que XE con pH=0,98 mantiene la categoría de sistema adhesivo “fuerte” al ser el más ácido, seguido por PLP pH=1,2, Go pH=2,05 y SB pH=4,3. Este último obtuvo la mayor diferencia entre el pH medido y el informado por el fabricante.

Tabla 1. pH sistemas adhesivos en estudio

Sistemas Adhesivos	pH Informado	pH Medido
Adper Single Bond 2	6,3	4,3
Go ;	2,0	2,05
Adper Prompt L – Pop	1,3	1,2
Xeno III	0,97	0,98
Ác. Ortofosfórico	0,5 – 0,7	0,24

Microfiltración Inmediata. La Tabla 2 muestra una disminución del grado de microfiltración marginal a medida que aumenta el pH de los sistemas adhesivos autoacondicionantes. El pH de los adhesivos y la mayor cantidad de muestras libres de microfiltración (Grado 0) en orden decreciente fueron: Grupo II (Go) 2,05, 48%; Grupo III (PLP) 1,2, 18%; Grupo IV XE 0,98, 13% y Grupo I (SB) 4,3, 8%. A su vez, el mayor número de muestras con microfiltración máxima (Grado 4) fue XE con el 18%, lo siguen en orden decreciente SB 5%, PLP y Go con 3% respectivamente. También, se observa que los mayores valores de microfiltración (Grados 3 y 4) se concentran mayormente en el sistema adhesivo, SB, con más del 50% de las observaciones (Fig. 1). Al comparar cada grupo experimental (II, III, IV), con el grupo control (grupo I) se observaron diferencias significativas. Al realizar comparaciones entre los distintos adhesivos en estudio, los valores de microfiltración

marginal del sistema adhesivo SB (grupo control) fueron mayores que el sistema adhesivo de autograbado Go ($p=0,001$). El grupo I tuvo mayores valores que el grupo III ($p=0,122$) y el grupo I no mostró diferencias significativas en cuanto a la microfiltración con el grupo IV ($p=0,505$).

Tabla 2. Grados de microfiltración marginal inmediata

Grado de Microfiltración	GRUPOS									
	I		II		III		IV		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
0	3	8	19	48	7	18	5	13	34	21
1	6	15	4	10	2	5	6	15	18	11
2	9	23	7	18	16	40	12	30	44	28
3	17	43	9	23	14	35	10	25	50	31
4	5	13	1	3	1	3	7	18	14	9
Total	40	100	40	100	40	100	40	100	160	100

Microfiltración Mediata. La Tabla 3 muestra una disminución del grado de microfiltración marginal mediata a medida que desciende el pH de los sistemas adhesivos. El pH de los adhesivos y la mayor cantidad de muestras libres de microfiltración marginal (Grado 0) en orden decreciente fueron: Grupo IV (XE) 0,98, 27,5%; Grupo III (PLP) 1,2, 20%; Grupo II (Go) 2,05 7,5% y Grupo I (SB) 4,3, 5%. El mayor número de muestras con microfiltración máxima (Grado 4) correspondió a los sistemas adhesivos SB y Go con 25%, en orden decreciente PLP 22,5% y XE 2,5%. Además, se observa que los valores de microfiltración más altos (Grados 3 y 4) se concentran mayormente en tres sistemas adhesivos, SB, Go y PLP, concentrando más del 50% de las observaciones, mientras que XE registra los valores de microfiltración más bajos (Grados 0 y 1) concentrando el 58% de las muestras en estas categorías.

El análisis anterior permitió inferir que posiblemente el sistema adhesivo XE presenta un comportamiento diferente respecto a los otros (Fig. 1). Se aplicó nuevamente el test Chi cuadrado eliminando el adhesivo XE del análisis, no registrándose una diferencia significativa en la distribución de microfiltración marginal entre los sistemas adhesivos SB, Go y PLP ($p=0,092$), por lo que XE presenta una menor microfiltración marginal, estadísticamente significativa en comparación con los demás sistemas adhesivos ($p=0,001$).

Tabla 3. Grado de Microfiltración Marginal Mediata por Grupo

Grado de Microfiltración	GRUPOS									
	I (SB)		II (Go)		III (PLP)		IV (XE)		Total	
	n	%	n	%	n	%	N	%	n	%
0	2	5	3	7,5	8	20	11	27,5	24	15
1	1	2,5	3	7,5	4	10	12	30	20	12,5
2	10	25	11	27,5	2	5	14	35	37	23,1
3	17	42,5	13	32,5	17	42,5	2	5	49	30,6
4	10	25	10	25	9	22,5	1	2,5	30	18,8
Total	40	100	40	100	40	100	40	100	160	100

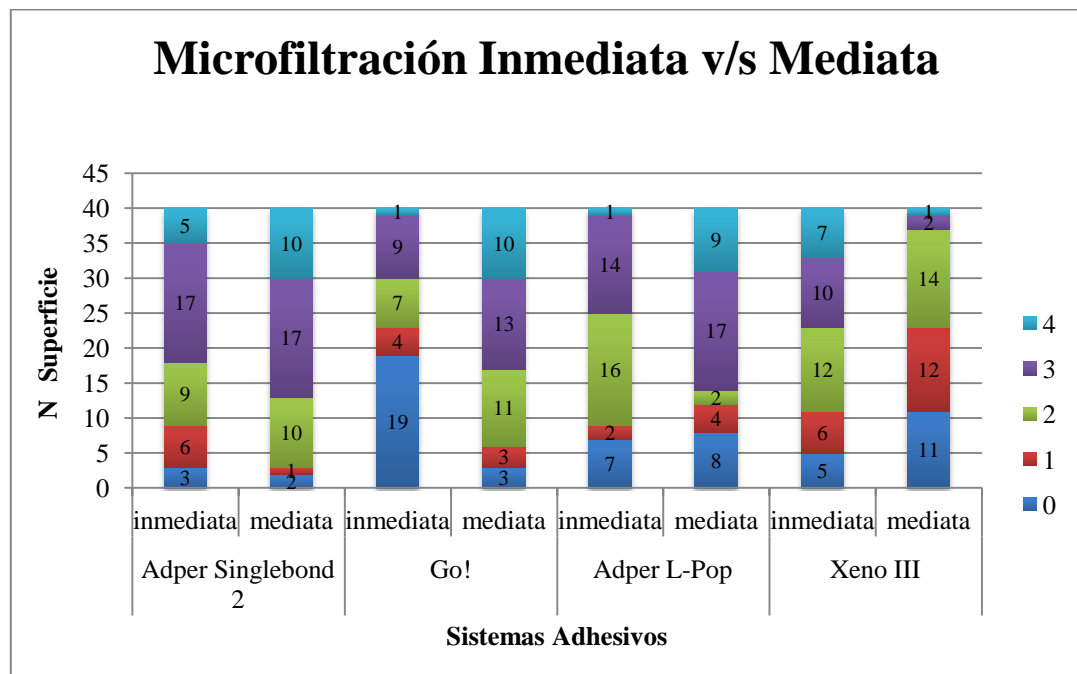


Fig. 1 Microfiltración inmediata (n=40) y mediata (muestras almacenadas en saliva artificial durante 90 días con recambios semanales del medio líquido para los diferentes sistemas adhesivos del estudio) (n=40).

Resistencia traccional. Para comparar los grupos en estudio, se realizó un análisis de varianza (ANOVA), con el fin de establecer la existencia o ausencia de diferencias entre los tratamientos según resistencia a la tracción (MPa). La Tabla 4 muestra que los valores promedio de resistencia a la tracción inmediata aumentan en la medida que descende el pH de los sistemas adhesivos de autograbado. Además podemos observar que el mayor valor promedio de la resistencia traccional inmediata por grupo corresponde al sistema adhesivo con acondicionamiento ácido previo SB 6,5 Mpa (Fig. 2). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p=0,031$) aunque estas diferencias según la prueba de Tukey sólo fueron significativas entre los grupos I (SB) y II (Go) ($p=0,028$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los grupos I y III (PLP) ($p=0,100$) ni para los grupos I y IV ($p=0,166$).

Tabla 4. Valor promedio resistencia traccional (MPa) inmediata. Se muestra el promedio (DS)

Grupos	Ph	Resistencia traccional inmediata (MPa)
I (SB)	4,3	6,54 (3,55)
II (Go)	2,05	2,73 (2,01)
III (PLP)	1,2	3,46 (3,53)
IV (XE)	0,98	3,79 (2,07)

La Tabla 5 muestra que el mayor valor promedio de la resistencia traccional mediata por grupo corresponde al sistema adhesivo con grabado ácido previo SB 5,38 Mpa (Fig. 2) en orden decreciente los sistemas adhesivos de autograbado PLP 4,0 Mpa, XE 3,4 Mpa y Go 1,49 Mpa. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p=0,006$) no obstante, estas diferencias según la prueba de Tukey sólo fueron significativas entre los grupos I (SB) y II (Go)

(p=0,003). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos I (SB) y III (PLP) (p=0,405) ni entre los grupos I y IV (XE) (p=0,126)

Tabla 5. Valor promedio resistencia traccional (MPa) mediata. Se muestra el promedio (DS)

Grupos	Ph	Resistencia traccional mediata (MPa)
I (SB)	4,3	5,38 (2,41)
II (Go)	2,05	1,49 (1,96)
III (PLP)	1,2	4,0 (1,47)
IV (XE)	0,98	3,4 (1,86)

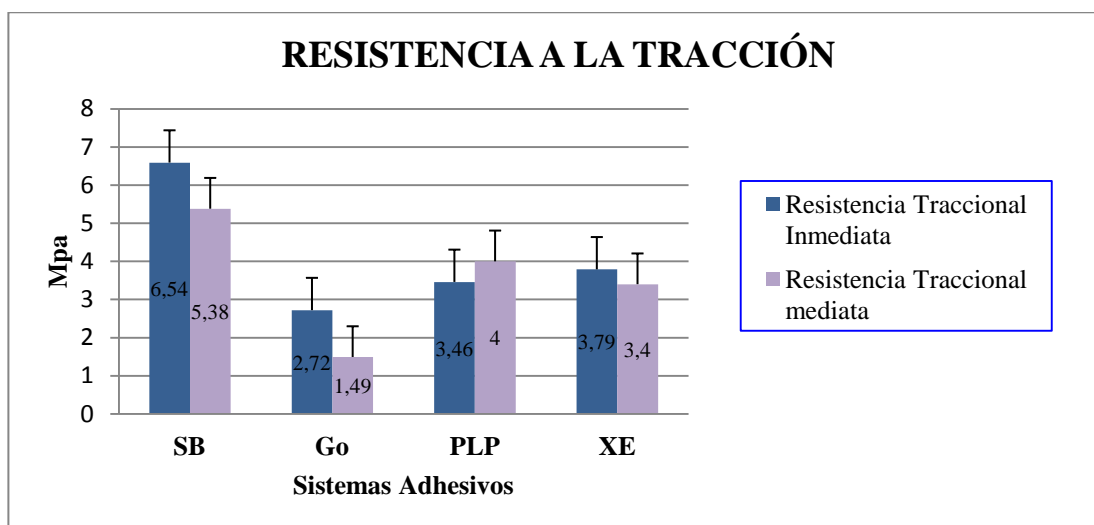


Fig.2 valores de resistencia traccional inmediata y mediata de adhesivos autograbantes y sistema adhesivo con grabado ácido previo.

En la Tabla 6 los grupos II, III y IV que corresponden a los sistemas adhesivos de autograbado muestran un claro predominio de fallas adhesivas en relación directa con el pH de estos. Así en orden decreciente grupo II (Go) presenta un 60% de fallas adhesivas, grupo III (PLP) 50%, grupo IV (XE) 40% y grupo I (SB) 10%. Se aprecia que el mayor porcentaje de fallas cohesivas 70% en resina se encuentran en el grupo I sistema adhesivo con grabado ácido previo (SB) (Fig. 2).

Tabla 6. Modo de fallos resistencia traccional inmediata

Tipos de Falla	GRUPOS									
	I (SB)		II (Go)		III (PLP)		IV (XE)		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%
Adhesiva	1	10%	6	60%	5	50%	4	40%	16	40%
Cohesiva	7	70%	1	10%	1	10%	4	40%	13	32,5%
Mixta	2	20%	3	30%	4	40%	2	20%	11	27,5%
Total	10	100%	10	100%	10	100%	10	100%	40	100%

La Tabla 7 muestra un claro predominio de modo de fallos adhesivos para el grupo II sistema de autograbado (Go) 70%, seguido por el grupo IV (XE) 30%, el grupo III (PLP) no registra fallas adhesivas pura sin embargo muestra un 50% de fallas mixtas (adhesiva – cohesiva). El grupo I sistema adhesivo con grabado ácido previo (SB) mostró un 60% de fallas cohesivas en resina y sólo un 10% de fallas adhesivas (Fig. 2).

Tabla 7 Modo de fallos resistencia traccional mediata

Tipos de Falla	GRUPOS									
	I (SB)		II (Go)		III (PLP)		IV (XE)		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%
Adhesiva	1	10%	7	70%	0	0%	3	30%	11	27,5%
Cohesiva	6	60%	0	0%	5	50%	6	60%	17	42,5%
Mixta	3	30%	3	30%	5	50%	1	10%	12	30%
Total	10	100%	10	100%	10	100%	10	100%	40	100%

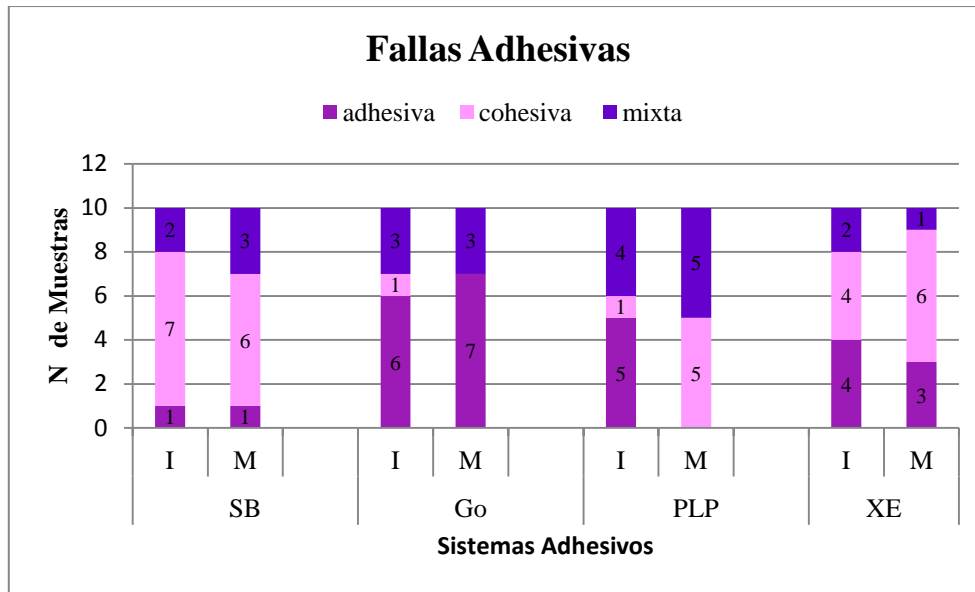


Fig. 3 tipo de fallas en ensayos de resistencia traccional inmediata y mediata para cada uno de los sistemas adhesivos en estudio.

6.6 Discusión

En la medición de pH realizada previamente a la aplicación de los sistemas adhesivos se obtuvieron datos muy similares a los declarados por los fabricantes, las pequeñas diferencias encontradas en los adhesivos autograbadores pueden deberse a diferencias normales de los instrumentos con los que fueron medidos (Illingworth, 1981). Es interesante lo ocurrido con el adhesivo convencional SB que sufre una diferencia de medición significativa; Según Illingworth (1981) las diferencias normales no deberían ser superiores a $\pm 0,1$ de pH, por lo que podría asumirse que el pH declarado por el fabricante es erróneo o durante su almacenamiento el adhesivo puede haber experimentado cambios. Lo anterior sugiere la necesidad de monitorear el comportamiento de los productos durante su almacenamiento.

La microfiltración o infiltración marginal se define como la penetración de líquidos, fluidos orales, bacterias y/o iones a través de los márgenes de la restauración o interface diente/restauración (Toledano et al., 1999; Toledano et al., 2001), generando brechas entre 10 a 20 μm . Este fenómeno es la causa más frecuente de sensibilidad postoperatoria, tinción marginal, caries secundarias, pulpitis irreversible y decoloración de los materiales restauradores (Hilton, 2000). Es sabida la dificultad que poseen los sistemas adhesivos para impedir la microfiltración en dentina. Inoue et al., (2001) mostraron los deficientes resultados alcanzados por los sistemas adhesivos convencionales como el SB. En este estudio se ponen a prueba aún más las capacidades de sellado de los sistemas adhesivos debido a la zona anatómica de los dientes en la cual se efectuó el proceso. Según Beznos (2001) las restauraciones ubicadas 0,5 mm apical al límite amelocementario se filtran considerablemente más que las ubicadas 0,5mm coronal a este límite. Los ciclos de termociclado y el almacenamiento en un medio líquido y por un periodo de 90 días, replican las condiciones a las cuales podría estar sometida una restauración en el medio oral en parte de este estudio. Miyazaki et al., (2000) sugieren que la unión inicial puede deteriorarse significativamente con el envejecimiento o en el almacenamiento a largo plazo, lo que podría conducir a fracasos prematuros.

Los resultados obtenidos para microfiltración marginal mediata al comparar el sistema adhesivo convencional SB con los adhesivos autograbadores Go y PLP se observan similares desde el punto de vista estadístico, probablemente la resina adhesiva del adhesivo de grabado total penetró a una profundidad similar tras el autograbado realizado por los monómeros en estos últimos (Li et al., 2001). Al evaluar microfiltración inmediata, y comparar los sistemas en estudio, SB, PLP y XE también tuvieron un comportamiento similar desde el punto de vista estadístico. Existen pocos estudios en relación al sistema adhesivo autograbador Go todo en uno, sin embargo se sabe que por su pH 2 es considerado suave y su nanométrica capa híbrida (Van Meerbeek et al., 2011) no sufre mayor grado de filtración en el largo plazo.

A pesar de la conveniencia de tener un adhesivo en una sola botella y de un solo paso de aplicación, los sistemas todo en uno han reportado que poseen un bajo rendimiento en la unión a dentina, debido a su alta hidrofilia, baja viscosidad y a la gran cantidad de solvente residual que genera gotas de agua después de la polimerización (Vaidyanathan y Vaidyanathan, 2009). El sistema adhesivo Go no tuvo resultados satisfactorios posterior a su almacenaje en medio líquido al compararlo con el sistema adhesivo XE, ya que posiblemente también influyan factores inherentes a su composición química como la ausencia de HEMA. Tay et al., (2002) demostró que los adhesivos libres de HEMA generan “árboles de agua” que producen nanofiltración en la capa de adhesivo sobre la interfaz de dentina debido a la separación de las fases de los componentes hidrofóbicos y al agua residual de la superficie de la dentina, produciendo mayor degradación hidrolítica de la resina adhesiva, lo que permite la difusión del agua a través de la capa de adhesivo desde los túbulos dentinarios y del medio derivando en microfiltración posterior. Por otro lado, el hecho que el adhesivo Go se encuentre contenido en una botella hace que los monómeros ácidos mezclen sus enlaces y se entrecrucen, por lo tanto la hidrólisis puede comenzar inmediatamente después de la producción del adhesivo y continuar por largo tiempo en el envase, acentuándose aún más si se está en contacto con un medio líquido (Graham y Vandewalle, 2010).

Los resultados obtenidos en este estudio para el sistema adhesivo PLP son coincidentes con los planteados por Pierce et al., (2003) quienes lo compararon con adhesivos convencionales, mostrando poca diferencia entre uno y otro en cavidades clase V de dentina. Muñoz et al., (2001) y Wilder et al., (2001) estudiaron los efectos del almacenamiento en un medio líquido para PLP de 18 a 36 meses encontrando pocas alteraciones a largo plazo y resultados similares en cuanto a microrfiltración para dentina cervical. Tay y Pashley (2001) informaron que el Adhesivo PLP es agresivo en su capacidad para desmineralizar la dentina, formando una auténtica capa híbrida de 3,5 a 4,0 μm de espesor y disolviendo el *Smear Layer* y *Smear Plugs* casi por completo, acercándose a lo que realizan los adhesivos convencionales. Es interesante que el adhesivo PLP, conteniendo una mezcla de monoésteres más ácidos y diésteres menos ácidos, tenga un pH suficientemente bajo como para disolver por completo el *Smear Layer* (Tay y Pashley, 2001).

Una posible explicación para la similitud de resultados con el sistema adhesivo Go a pesar de poseer un pH más agresivo la entrega Nishitani et al., (2006) quienes reportaron que la degradación también podría tener su explicación en las Metaloproteinasas de la dentina, las que se activarían con los pH de adhesivos autograbadores entre 1 y 2.5, mientras que pH inferiores desnaturalizan estas enzimas, por lo que no tendrían un efecto significativo en ellos. En el proceso de aumentar la concentración de monómeros ácidos en el adhesivo, las formulaciones pueden ser demasiado hidrofílicas, lo que aumenta la probabilidad de que los adhesivos autograbadores sufran degradación hidrolítica (Tay y Pashley, 2001). Esto sería concordante con lo descrito por Malacarne et al., (2006), que sostiene que los adhesivos autograbadores de un solo paso que contienen HEMA en exceso son más hidrofílicos y exhiben alta absorción de agua en un medio líquido a lo largo del tiempo y por ende mayor degradación.

En este estudio, el sistema adhesivo XE presentó los menores valores de microrfiltración mediata tanto al compararlo con un sistema adhesivo convencional como con otros sistemas adhesivos autograbadores, lo que difiere de lo descrito en la literatura, H. Chen et al., (2003) y J. Manhart et al., (2003) informaron que XE posee características similares de microrfiltración a la de los adhesivos convencionales,

aunque es relevante recalcar que estos estudios fueron de microfiltración inmediata envejecidos mediante el método de termociclado y no mediante un periodo de almacenamiento prolongado como lo fue en este estudio. Los resultados obtenidos son sorprendentes pensando en que el sistema adhesivo XE presenta una gran cantidad de monómeros hidrofílicos y estabilizadores como el BHT que ponen en peligro la polimerización resultando en un incremento de la concentración de monómero residual, al igual que el adhesivo PLP, el cual presenta un bajo porcentaje de monómeros polimerizados, además de ser altamente permeables (Cadenaro et al., 2005). Posiblemente los buenos resultados obtenidos para la microfiltración mediata se deban a su pH agresivo (pH=0.97) el cual contribuye a crear una morfología adecuada de la interfaz adhesivo-dentina, lo que le permite sortear de buena forma las condiciones del medio, como lo informan Van Meerbeek et al. (2011). Dentro de las características que presenta esta interfaz se encuentra presencia de capa híbrida, disolución de *Smear Layer* y una desmineralización completa. La impregnación de la resina adhesiva se realiza en la totalidad de la superficie grabada impidiendo el colapso de la red colágena y con ello se previene la degradación.

Sano et al. (1999), Besnault y Attal (2002) y Hashimoto et al. (2008) concluyen lo importante de someter a los adhesivos autograbadores a almacenamientos en medios líquidos en estudios *in vitro*, para poder evaluar de mejor manera la pérdida de material adhesivo que se encuentra entre las fibras de colágeno y los cambios morfológicos en la interfase adhesivo-dentina a largo plazo producto de la penetración de agua. Además determinan que la capa híbrida es uno de los eslabones débiles en la unión de la resina a la dentina que puede ser susceptible al ataque hidrolítico.

Los resultados obtenidos destacan la necesidad de investigaciones sobre el rendimiento a largo plazo de adhesivos autograbadores para comprobar las características de estabilidad que poseen después de la polimerización y su capacidad para promover una unión duradera a un sustrato complejo, como lo es la dentina media cervical producto de la composición anatómica de esta y de las condiciones a las que se ve sometida en la cavidad oral como cuando se genera caries, dentina esclerótica o dentina afectada.

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, es posible concluir que los adhesivos autograbadores no poseen mayores valores de microfiltración que los adhesivos convencionales, independiente de su pH.

Para evaluar de manera más integral las características de los adhesivos autograbantes de distinto pH, decidimos utilizar pruebas mecánicas, además de la microfiltración marginal. Esta prueba se define como la carga mecánica necesaria hasta que se produce el fracaso de la unión, dividido por el área transversal de la superficie dentaria (Vanajasan et al., 2011). Para medirla se aplican dos fuerzas en igual dirección y sentido contrario, que tienden a aumentar la longitud del cuerpo hasta alcanzar la ruptura de la unión (Macchi R, 1988).

En el presente estudio, el mayor valor promedio de resistencia a la tracción correspondió al sistema adhesivo con grabado previo SB (Fig. 2). Existen evidencias en relación a la resistencia adhesiva de sistemas que emplean ácido ortofosfórico para acondicionar la superficie dentinaria, que muestran mayor valor al compararlos con los sistemas adhesivos autoacondicionantes, lo cual es consistente con lo obtenido en el presente resultado tanto para la resistencia adhesiva inmediata como mediata (Ibrahim, et al., 2010). Las nanopartículas presentes en el relleno de los adhesivos actuarían aumentando la resistencia física del adhesivo, pudiendo penetrar en los espacios de tamaño micrométrico del esmalte y dentina, como son los túbulos dentinarios, reforzando los *tags* de resina y la capa híbrida, la cual sería más uniforme y de mayor grosor. Se asevera que este mayor grosor podría brindar cierta elasticidad amortiguadora durante la contracción de polimerización y frente a las fuerzas de masticación (Harada et al., 2006).

El pH de los adhesivos podría ser un factor influyente en los valores de resistencia a la tracción de resinas compuestas. Van Meerbeek et al., (2011), menciona que es por la acción de adhesivos de pH agresivo que se logra formar los *tags* de resina, mientras que estos apenas se formarían con los de un mayor pH, entendiendo que es la capa híbrida y los *tags* de resina los que entregarán resistencia a la unión resina – diente, apoyando los presentes resultados (Van Meerbeek et al., 2011). De los tres sistemas autoacondicionantes estudiados el valor promedio más

bajo de resistencia a la tracción inmediata y mediata respectivamente fue el obtenido con el sistema autograbante Go, siendo este clasificado como un sistema de pH leve. Los adhesivos de pH leve desmineralizan la dentina solo parcialmente, además su acción como autoacondicionante puede verse afectada por la presencia de capas de *smear layer* gruesas, que no serán disueltas lo que producirá fallas bajo la capa híbrida por la remoción insuficiente del *smear layer* (Van Landuyt et al., 2010). Haciendo la unión adhesiva inestable a largo plazo y altamente vulnerable a los procesos de degradación hidrolítica y enzimática.

Al analizar el tipo de falla, se puede ver que el Grupo I, presentó un 70% y 60% respectivamente de fallas cohesivas (Fig. 3), entendiendo que se alcanzó una unión adhesiva fuerte, no así los demás grupos en estudio, en los cuales el mayor porcentaje lo alcanzó la falla de tipo adhesiva, y una cantidad importante de muestras con fallas mixtas. Este comportamiento de los sistemas adhesivos de autograbado se ha analizado en otros trabajos, donde el mayor porcentaje de fallas fue adhesiva siendo coincidente con los resultados de este trabajo (Howard y Soderholm, 2010).

Con el estudio realizado es posible probar que la técnica de grabado total sigue siendo la que entrega valores más altos de resistencia traccional mediata e inmediata en dentina. El igualar o superar dicha característica dependerá de la composición de los sistemas de autograbado, además de asegurar zonas de desmineralización que favorezcan la formación de capas híbridas fuertes, lo cual según los resultados obtenidos se logra en los sistemas de pH agresivos. Se conoce que los adhesivos suaves de autograbado fallan frecuentemente bajo la capa híbrida después del envejecimiento en agua, lo que también puede ser el resultado de la remoción insuficiente de *Smear Layer* por éste tipo de sistemas adhesivos (Van Landuyt et al., 2010).

6.7 Conclusión

Tomados en su conjunto, los resultados de estos estudios sugieren que los sistemas adhesivos autograbadores no poseen mayores valores de microfiltración marginal que los adhesivos con grabado previo independiente de su pH. Diferente es su comportamiento en relación a la resistencia traccional donde hay un claro predominio del sistema adhesivo convencional pero que es estadísticamente significativo sólo en relación al sistema autograbante de mayor pH (Go). Lo que sugiere que aún se requiere de mayores estudios e investigación para mejorar la estabilidad y comportamiento en el tiempo de los sistemas adhesivos de autograbado.

6.8 Bibliografía

- 1.- Besnault, C., & Attal, J. P. (2002). Influence of a simulated oral environment on microleakage of two adhesive systems in Class II composite restorations. *J Dent*
- 2.- Beznos, C. (2001). Microleakage at the cervical margin of composite Class II cavities with different restorative techniques. *Oper Dent*, 26, 60-69.
- 3.- Bolaños, González, De Haro, Briones 2008. Interfacial Morphology and Bond Strength of Self – Etching Adhesives to Primary Dentin with or Without Acid Etching. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. Published on line in Wiley InterScience.
- 4.- Bourbia M, Ma D, Cvitkovitch D.G, Santerre J.P, Finer Y. (2013) Cariogenic Bacteria Degrade Dental Resin Composites and Adhesives. *Journal of Dental Research* 92(11):989-994.
- 5.- Cadenaro, M., Antonioli, F., Sauro, S., Tay, F. R., Di Lenarda, R., Prati, C., Breschi, L. (2005). Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci*, 113(6), 525-530.
- 6.- Chen, H., J. M., M. Thum, R. Hickel. (2003). *Determination of Microleakage of Xeno III Self-etching Adhesive.*, LMU University, Munich, Germany.
- 7.- DaRosa R., Cenci MS., Donassollo TA., Loguercio AD., Demarco FF. (2006). A clinical evaluation of posterior composite restorations: 17-year findings. *J Dent*; 34:427-35.
- 8.- Ernst, C. P. (2004). Positioning self-etching adhesives: versus or in addition to phosphoric acid etching? *J Esthet Restor Dent*, 16(1), 57-69.
9. - Ferracane JL (2011). Resin composite- state of the art. *Dent Mater* 27:29-38.
10. - Gaengler P., Hoyer I., Montag R. (2001). Clinical evaluation of posterior composite restorations: the 10- year report. *J Adhes Dent*; 3:185-94
- 11.- Graham, J. B., & Vandewalle, K. S. (2010). Effect of long-term storage temperatures on the bond strength of self-etch adhesives. *Mil Med*, 175(1), 68-71.
- 12.- Gregoire, G., y Ahmed, Y. (2007). Evaluation of the enamel etching capacity of six contemporary self-etching adhesives. *J Dent*, 35(5), 388-397.

- 13.- Grégoire, G., y Millas, A. (2005). Microscopic evaluation of dentin interface obtained with 10 contemporary self-etching systems: correlation with their pH. *Oper Dent*, 30(4), 481-491.
14. - Harada T. (2006). Effect of the Number of Coats of Simplified Adhesive Systems on Microleakage of Dentin-Bordered Composite Restorations. *Journal Of Contemporary Dental Practice*. Vol. (7)5: p.34-41.
- 15.- Hashimoto, M., Fujita, S., Kaga, M., & Yawaka, Y. (2008). Effect of water on bonding of one-bottle self-etching adhesives. *Dental Materials Journal*, 27(2), 172-178.
16. - Hikita K; et al 2006. Bonding effectiveness of adhesive luting agents to enamel and dentin. *Dental Materials*. Article in Press: 1- 10.
- 17.- Hilton, T. J. (2002a). Can modern restorative procedures and materials reliably seal cavities? In vitro investigations. Part 1. *Am J Dent*, 15(3), 198.
- 18.- Hilton, T. J. (2002b). Can modern restorative procedures and materials reliably seal cavities? In vitro investigations. Part 2. *Am J Dent*, 15(4), 279.
19. - Howard, K., y Soderholm, K. J. (2010). Fracture toughness of two dentin adhesives. *Dent Mater*, 26(12), 1185-1192.
- 20.- Ibrahim M, Nagia R y Manal F (2010). Resistencia de la unión microtracción de grabar y enjuagar frente a los sistemas adhesivos de autograbado. *Biomateriales dentales Facultad de Odontología de la Universidad de Mansoura, Mansoura, Egipto*. p 589
- 21.- Illingworth, J. A. (1981). A common source of error in pH measurements. *Biochem. J.*, 195, 259-262.
- 22.- Inoue, S., Vargas, M. A., Abe, Y., Yoshida, Y., Lambrechts, P., Vanherle, G., Van Meerbeek, B. (2001). Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to dentin. *J Adhes Dent*, 3(3), 237-245.
23. - Krifka S, Spagnuolo G, Schmalz G, Schweikl H (2013). A review of adaptive Mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. *Biomaterials* 34:4555-4563
- 24.- Kwong, S. M., Tay, F. R., Yip, H. K., Kei, L. H., y Pashley, D. H. (2000). An ultrastructural study of the application of dentine adhesives to acid-conditioned sclerotic dentine. *Journal of Dentistry*, 28(7), 515-528

- 25.- Lambrechts P, Van Meerbeek B, Perdigao J, Vanherle G. 2001. Adhesion. In: Roulet JF, Wilson NHF, Fuzzi M. *Advances in Operative Dentistry, Challenges of the future*. Quintessence Publishing, Co., Inc. Chicago, 9(2): 135-159.
- 26.- Li, H. P., Burrow, M. F., y Tyas, M. J. (2001). The effect of long-term storage on nanoleakage. *Operative Dentistry*, 26(6), 609-616.
- 27.- Macchi R. (1988). *Materiales dentales, Fundamentos para su estudio*. Ed. Panamericana. 2ed. 27-32.
- 28.- Malacarne, J., Carvalho, R. M., de Goes, M. F., Svizero, N., Pashley, D. H., Tay, F. R., De oliveira Carrilho, M. R. (2006). Water sorption/solubility of dental adhesive resins. *Dent Mater*.
- 29.- Manhart, J., Chen, H. Y., Mehl, A., Weber, K., y Hickel, R. (2001). Marginal quality and microleakage of adhesive class V restorations. *J Dent*, 29(2), 123-130.
- 30.- Manhart, J., M. T., H. Chen R.Hickel. (2003). *Marginal Adaptation of Xeno III Self-etching Adhesive after Artificial Aging*. Paper presented at the Convención Anual San Antonio TX, LMU University, Munich, Germany.
- 31.- Mauro, S. J., Durão, V. C. A., Briso, A. L. F., Sundefeld, M. L. M. M., & Rahal, V. (2012). Effect of different adhesive systems on microleakage in class II composite resin restorations. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 6-10.
- 32.- Miyazaki, M., Sato, M., y Onose, H. (2000). Durability of enamel bond strength of simplified bonding systems. *Oper Dent*, 25(2), 75-80.
- 33.- Munoz CA, D. J., Bernal G, Torres J, Wilson A. (2001). Clinical evaluation of Prompt L-Pop at 6 months. *J Dent Res.*, 80(abstract 237)(65).
- 34.- Nishitani, Y., Yoshiyama, M., Wadgaonkar, B., Breschi, L., Mannello, F., Mazzoni, A., Pashley, D. H. (2006). Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci*, 114(2), 160-166
- 35.- Opdam, N. J., Feilzer, A. J., Roeters, J. J., y Smale, I. (1998). Class I occlusal composite resin restorations: in vivo post-operative sensitivity, wall adaptation, and microleakage. *Am J Dent*, 11(5), 229-234.
36. - Pashley D, Yoshiyama M, Tay F. 2002. Two modes of nanoleakage Expression in Single- Step Adhesives. *Journal of Dental Research* Vol. 81(7): 472- 476
- 37.- Pashley, D. H., Tay, F. R., Yiu, C., Hashimoto, M., Breschi, L., Carvalho, R. M., y Ito, S. (2004). Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *Journal of Dental Research*, 83(3), 216-221.

38. - Perdigao J, Geraldeli S, Hodges JS. (2003) Total-etch versus self-etch adhesive: effect on postoperative sensitivity. *J Am Dent Assoc* 134:1621-9
- 39.- Pierce M.G., W. W. B. y. L. D. H. (2003). *Microleakage of class V resin composite restorations placed using self-etching adhesives*. University of Nebraska Medical Center College of Dentistry, Lincoln, USA.
- 40.- Salz, U., Mucke, A., Zimmermann, J., Tay, F. R., y Pashley, D. H. (2006). pKa value and buffering capacity of acidic monomers commonly used in self-etching primers. *Journal of Adhesive Dentistry*, 8(3), 143-150.
- 41.-.Sánchez F, Osorio R, Toledano M. (2004). Control del colapso del colágeno: Sistemas autograbadores. *Av. Odontoestomatol.* 175-183p.
- 42.- Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. (1994). Microporous dentin zone beneath resin – impregnated layer. *Operative Dentistry*. Vol. 19: 599 – 664.
- 43.- Sano, H., Yoshikawa, T., Pereira, P. N., Kanemura, N., Morigami, M., Tagami, J., y Pashley, D. H. (1999). Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res*, 78(4), 906-911.
- 44.- Stewardson D., Thornley P., Bigg T., Bromage C., Browne A., Cottam D (2010). The survival of class V restorations in general dental practice: Part 1, baseline data. *Br Dent J*, 208: 1-5.
- 45.- Swift, E. J. (2002). Dentin/enamel adhesives: review of the literature. *Pediatr Dent*, 24(5), 456-461.
- 46.- Tay F, Pashley D. 2001. Agressiveness of contemporary self etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dental Materials*. Vol. 17: 296-308.
- 47.- Tay FR, King NM, Chan KM, Pashley DH. (2002). How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously? *J Adhes Dent* 4:255-69.
- 48.- Tay, F. R., Pashley, D. H., y Yoshiyama, M. (2002). Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res*, 81(7), 472-476.
- 49.- Toledano, M., Osorio, E., Osorio, R., y Garcia-Godoy, F. (1999). Microleakage of Class V resin-modified glass ionomer and compomer restorations *J Prosthet Dent* (Vol. 81, pp. 610-615).
- 50.- Toledano, M., Osorio, R., de Leonardi, G., Rosales-Leal, J. I., Ceballos, L., y Cabrerizo-Vilchez, M. A. (2001). Influence of self-etching primer on the resin adhesion to enamel and dentin. *Am J Dent*, 14(4), 205-210.

- 51.- Vaidyanathan, T. K., y Vaidyanathan, J. (2009). Recent Advances in the Theory and Mechanism of Adhesive Resin Bonding to Dentin: A Critical Review. *Journal of Biomedical Materials Research* 88B(2), 558-578.
- 52.- Van Landuyt K, Snauwaert J, Munck J, Peumons M, Yoshida Y, Lambrechts P, Van Meerbeek B 2007. Systematic review of the chemical composition of contemporary Dental adhesive. *Biomaterials* Vol. 28: 3757 – 3785.
- 53.- Van Landuyt KL, Mine A, De Munck J, Countinho E, Peumans M, Jaecques S, et al. Technique sensitivity of water-free one-step adhesives. *Dent Mater* 2008; 24:1258–67.
- 54.- Van Landuyt, K. L., De Munck, J., Mine, A., Cardoso, M. V., Peumans, M., y Van Meerbeek, B. (2010). Filler debonding & subhybrid-layer failures in self-etch adhesives. *J Dent Res*, 89(10), 1045-1050.
- 55.- Van Meerbeek B., Yoshihara K., Yoshida Y. , Mine A. De Munck J., Van Landuyt K.L. (2011) State of the art of self-etch adhesives. *Dental Materials* 27: 17-28
- 56.- Vanajasan, P.P., Dhakshinamoorthy, M., Rao, C.S (2011) Factors affecting the bond strength of self-etch adhesives: A meta-analysis of literatura. *J Conserv Dent*, 14(1),62-67.
- 57.- Wilder AD, P. J., Heymann HO, Swift EJ, Roberson TM, Bayne SC. (2001). Six-month clinical evaluation of an all-in-one dentin adhesive. *J Dent Res.*, 80(65).
- 58.- Williams, P. T., Schramke, D., y Stockton, L. (2002). Comparison of two methods of measuring dye penetration in restoration microleakage studies. *Operative Dentistry*, 27(6), 628-635.

CAPÍTULO 2

Efecto de Adhesivos Autograbantes de Distinto pH Sobre las Características Ultraestructurales de la Dentina

7.1 Resumen

Objetivo: El presente estudio tiene como propósito analizar la ultraestructura microscópica de la dentina tratada con sistemas adhesivos autoacondicionantes de distinto pH. **Métodos:** 8 terceros molares humanos sanos fueron cortados horizontalmente para exponer dentina superficial y fueron distribuidos al azar en 4 grupos (n=2): Adper Single Bond 2 (SB), 3M ESPE, Go!, SDI (Go), pH leve, Adper Prompt L Pop, 3M ESPE (PLP), moderado, Xeno III, Dentsply (XE), fuerte. Se talló una cavidad clase I con ancho y largo de 4 mm y profundidad de 1.5 mm en dentina media, las cavidades fueron estandarizadas con el calibrador digital (Modelo: CD-8 UC. Mitutoyo Corp, Japón). Se procedió al corte de las raíces a 2mm del límite amelocementario. Se restauraron con resina compuesta (Filtek TM Z350 XT, 3M ESPE). Se hemiseccionó el diente en sentido vestibulo / palatino para ser observadas a través de un MEB (Zeiss, modelo DMS 940). **Resultados:** Todos los sistemas adhesivos en estudio mostraron formación de capa híbrida, tanto los sistemas de autograbado como el adhesivo con grabado previo (SB). Se comprobó la presencia de *smear layer* en las muestras acondicionadas con los sistemas adhesivos de autograbado (Go), (PLP) y (XE). El sistema de autograbado leve no modificó de manera notoria la capa de *smear layer*, donde se visualizaron escasos *tags*. Para los adhesivos de autograbado moderado y fuerte se observó menor presencia de *smear layer* y los *tags* se presentaron en mayor número, en comparación con el adhesivo de pH leve. En la técnica, con acondicionamiento ácido previo el *smear layer* no fue detectado y los *tags* de resina se presentaron de manera nítida en toda su extensión. **Conclusiones:** Dentro de las limitaciones de este estudio se puede concluir que la observación al MEB mostró que el sistema adhesivo con grabado previo presenta las mejores características en la unión dentina-resina. Existiendo una tendencia en los sistemas adhesivos autograbantes de menor pH a mostrar una unión dentina-resina con mejores características ultraestructurales que los adhesivos de mayor pH.

Palabras claves: Dentin, bonding, scanning electron microscopy, Self-etching adhesives, Microscopy, Hybrid layer.

7.2 Abstract

Aim: The present study has the purpose to analyze the microscopic ultrastructure of dentin treated with different pH self-etch adhesive systems. **Methods:** 8 sound human third molars were cut horizontally and randomly assigned in 4 groups (n=2): Adper Single Bond 2 (SB), 3M ESPE, mild pH Go! SDI (Go), moderate pH Adper Prompt L Pop, 3M ESPE (PLP) and strong pH Xeno III, Dentsply (XE). A 4mm width and 1.5mm depth Class I cavity was made in median dentin, standardized with a digital caliper (Model CD-8 UC, Mitutoyo Corp, Japan). Roots were cut 2mm from the cement-enamel junction. Composite resin restorations were performed (Filtek TM Z350 XT, 3M ESPE). Teeth were sectioned bucco-lingually for observation through SEM (Zeiss, model DMS 940). **Results:** All adhesive systems showed an hybrid layer, self-etch as etch and rinse system (SB). Presence of a smear layer was observed in samples conditioned with self-etching systems Go, PLP and XE. Mid self-etching system did not notoriously modify the smear layer, were few tags were observed. For moderate and strong adhesive systems, a smaller smear layer and higher number of tags were observed, compared with the mild pH system. In the etch and rinse technique the smear layer was not detected and tags were notoriously seen in all the extension. **Conclusions:** Despite the limitations of this study, it can be concluded that under SEM, the etch and rinse adhesive showed the best features in dentin-resin bond, with a tendency towards lower pH self-etch adhesives showing better ultrastructural characteristics in dentin-resin bond than higher pH adhesives.

Keywords: Dentin, bonding, scanning electron microscopy, Self-etching adhesives, Microscopy, Hybrid layer.

7.3 Introducción

El principio fundamental de adhesión a dentina, se basa en la infiltración y posterior polimerización del sistema adhesivo en la red de fibras colágenas que han sido expuestas por la acción del ácido grabador, se genera así, una estructura definida como “capa híbrida” (Nakabayashi N et al, 1998; Van Meerbeek B et al, 2003). La capa híbrida, genera un sellado micromecánico de la dentina intertubular y de los túbulos dentinarios a través de los *tags* de resina, impermeabiliza el tejido, evitando la sensibilidad posoperatoria y la caries secundaria. Además, frente a la contracción inherente de la resina compuesta, puede actuar compensando las tensiones generadas por la polimerización (Salvio et al, 2013). La unión a dentina puede obtenerse por medio del grabado total, que considera grabado ácido, lavado y secado previo o a través de los sistemas de autograbado. El grabado con un ácido fuerte (ácido fosfórico 35%-40%) elimina completamente el *smear layer* y los *smear plugs*, desmineralizando la dentina a una profundidad de 3 a 6 MPa (Perdigao et al, 1996). Sin embargo, esto se ha considerado una técnica sensible, que aumenta la permeabilidad de la dentina 15 a 20 veces lo que podría comprometer la adhesión, debido a la presencia del fluido dentinario que es constante en su flujo hacia el exterior desde la pulpa. La aparición de los sistemas adhesivos hidrofílicos permitió superar en parte este inconveniente por el sellado que otorga la resina adhesiva al ingresar en los túbulos dentinarios (Nakabayashi 1992; Van Meerbeek B, et al. 2003). Luego de la polimerización del sistema adhesivo se forma la zona de transición reforzada a la dentina, denominada “capa híbrida”, la primera observación de esta fue realizada en 1952 por Kramer y Mclean definida como capa intermedia, fue descrita por primera vez en 1982 por Nakabayashi (Nakabayashi et al, 1982), como una capa de dentina reforzada con resina, siendo esto la base para la retención micromecánica de los sistemas adhesivos a dentina (Nakabayashi et al, 1982; Salvio et al, 2013). La profundidad de la desmineralización y la completa o incompleta acción del monómero de resina en la zona desmineralizada, son factores que afectan la calidad de la unión a dentina. Si la profundidad de la desmineralización excede la difusión del adhesivo, quedará expuesta una zona de fibras colágenas sin soporte de

hidroxiapatita, no infiltrada o no hibridizada (Nakabayashi 1982; Hashimoto et al, 2002; Ferrari et al, 2003). Lo que podría llevar a la degradación de la unión resina dentina (nanofiltración) resultando en una disminución de la fuerza de adhesión (Sano et al, 1994, 1995; Pashley et al, 2002; Reis et al, 2004; Vaidyanathan, Vaidyanathan 2008; Salvio et al, 2013). También se ha descrito una segunda forma de nanofiltración atribuido a la presencia de porosidades dentro de la capa híbrida en zonas donde el agua fue eliminada de forma parcial. (Li et al, 2000; Tay et al, 2002; Tay et al, 2003; Wang et al, 2003). Esto explicaría la degradación hidrolítica de la unión resina-dentina y como consecuencia de ello las fibras colágenas quedan sin protección y vulnerables a la degradación por metaloproteinasas, lo que socava la durabilidad y estabilidad de las restauraciones adhesivas (Carrilho et al, 2007; Zhang et al, 2009).

Frente a lo planteado, los sistemas adhesivos de autograbado se crean en parte para simplificar los pasos clínicos, disminuir la sensibilidad posoperatoria y en general solucionar la problemática planteada en relación a los adhesivos con grabado ácido previo. En la actualidad existe evidencia que indica que los sistemas adhesivos autograbadores de un solo paso presentan menor capacidad de adhesión que los de grabado total (Aguilera et al, 2001; Cardoso et al, 2011; Van Meerbeek et al, 2011). Los autograbadores son capaces de acondicionar e imprimir el sustrato dentinario de manera simultánea e incorporar el *smear layer* al proceso de adhesión (Cardoso et al, 2011; Van Meerbeek et al, 2011). Los sistemas adhesivos autograbantes se clasifican según su pH en: Leves ($\text{pH} > 2$), Moderados ($\text{pH} 1- 2$) y Agresivos o fuertes ($\text{pH} < 1$). Los más ácidos proveen transformaciones micromorfológicas más profundas en dentina, entregando capas híbridas de mayor espesor, lo cual no es sinónimo de mayor retención, ya que para una mayor fuerza de adhesión no es preciso capas híbridas gruesas sino homogéneas y uniformes (Van Meerbeek et al, 2011). Dada las variaciones de pH que pueden presentar estos sistemas auto-acondicionantes, surge el interrogante de si las variaciones de pH de los distintos sistemas autograbantes disponibles en el comercio disuelven diferencialmente el *smear layer* y los *smear plugs* en el interior de los túbulos, con o sin la formación de

una zona de real hibridación, que podría traducirse adicionalmente, en una incompleta infiltración de la estructura dentinaria, originando por lo tanto baja resistencia mecánica y poniendo en peligro la adhesión. A su vez, si se produce la real hibridación se puede producir una adhesión confiable a nivel de dentina-resina. Resulta así relevante conocer las características de dicha interface. La ultraestructura de la interface producida por los adhesivos autograbadores fuertes es similar a la interface dentina- resina de los sistemas adhesivos con grabado previo, pero se diferencia por el hecho de que los fosfatos de calcio disueltos no se lavan. Se espera que estos fosfatos sean inestables en un medio acuoso, y que por tanto debiliten la integridad de la interface (De Munck et al., 2006). Los sistemas de autograbado suave sólo interactúan superficialmente en la dentina y no disuelven los cristales de hidroxiapatita, sino que los mantiene en su lugar dentro de una capa híbrida fina (Yoshida et al., 2004). Una de las formas de evaluar la interface de unión de los adhesivos a dentina es a través de la microscopía electrónica de barrido (MEB). Las características morfológicas de la interface de los adhesivos autograbantes en relación a los sistemas con grabado previo presentan diferencias importantes (Albaladejo et al., 2010) siendo la capa híbrida una de ellas. Se ha reportado que las capas híbridas generadas por los adhesivos con grabado previo presentan mayor espesor que adhesivos de autograbado (Osorio et al., 2003; Albaladejo et al., 2010). En relación a la formación de *tags* de resina en dentina algunos autores sostienen que son más numerosos y con bases amplias para los adhesivos con grabado previo (Tay et al., 2000; Albaladejo et al., 2010). Finalmente la influencia del pH en la morfología de las interfaces de dentina y adhesivos autograbantes pareciera no estar clara del todo se dice que no es un factor determinante (Grégoire et al., 2005). El propósito de esta investigación será analizar al MEB la capa híbrida formada en dentina tratada con sistemas adhesivos autograbadores de diferente pH, comparados con el sistema de grabado total y ver si existen diferencias en la presencia, espesor y uniformidad de las capas híbridas, así como de los *tags* de resina.

7.4 Metodología

Preparación de las muestras

Para la realización de este estudio descriptivo, se seleccionaron 8 terceros molares con indicación de extracción por ortodoncia los que debían cumplir con los siguientes criterios de inclusión: Ausencia de lesiones de caries y obturaciones, desarrollo radicular mayor a dos tercios y corona con diámetro vestibulo palatino/lingual mayor o igual a 6mm. Posterior a su extracción, los dientes se prepararon eliminando todo resto orgánico con instrumental de periodoncia (Jacket N° 30-33 Hu-Friedy) y escobilla profiláctica, se conservaron en suero fisiológico al 0,9% (Lab. Biosano, Santiago, Chile) a temperatura ambiente, la solución fue renovada cada 7 días por 60 días.

A cada molar se le realizó desgaste de su cara oclusal con piedra diamantada cilíndrica N° 12 (Jota, Suiza), lográndose la reducción de las cúspides hasta exponer dentina superficial, guiada por la exposición dentinaria a nivel de la fosa más profunda, dejando una superficie perpendicular al eje axial del diente. Se talló una cavidad clase I con fresa de carbide redonda N° 8 (Fava, Brasil) y cilíndrica N°10 (MDT, Israel) hasta obtener una cavidad en el centro de la cara oclusal con ancho y largo de 4mm y profundidad de 1.5mm. Las cavidades fueron realizadas por un solo operador, estandarizadas mediante un calibrador digital (Modelo: CD-8 UC. Mitutoyo Corp, Japón) y verificadas por un segundo operador. Finalmente se procedió al corte de las raíces a 2mm del límite amelocementario.

Procedimientos adhesivos

En el estudio se utilizaron cuatro sistemas adhesivos, divididos en dos categorías: adhesivo con grabado previo o grabado total (Grupo control), Adper Single Bond 2 (SB) (pH 4.3) (3M ESPE, St, Paul, MN, USA) y tres sistemas autoacondicionantes de diferente pH (grupos experimentales). Go! (Go), pH leve (2,05) (SDI, Victoria, Australia), Adper Prompt L-Pop (PLP), pH moderado (1,2) (3M ESPE), Xeno III (XE), pH agresivo (0,98) (Dentsply, Konstanz, Germany).

Los molares se dividieron al azar en 4 grupos quedando 2 en el grupo control y dos molares para cada uno de los tres sistemas adhesivos en estudio. Antes de proceder con las diferentes técnicas adhesivas se midió el pH de cada uno de los materiales a utilizar por medio de un pHmetro (HI 9126, HANNA Instruments, USA).

Grupo N° 1 Control: Sistema adhesivo convencional, (SB). Se procedió al acondicionamiento con ácido ortofosfórico al 37% (Scotchbond 3M ESPE) por 15 segundos, se lavó con agua por 30 segundos y luego se secó con trozos de papel absorbente. A continuación se aplicó el sistema adhesivo SB en una primera capa, se sopló suavemente con aire por 5 segundos y se aplicó una segunda capa fotopolimerizando por 10 segundos con lámpara de fotocurado halógena (Hilux, Modelo 250, Benliogeu Dental, Ankara, Turquía) a una potencia de 655 mW/cm² medido con un radiómetro digital (Bluedent, Plivdiv, Bulgaria). Se aplicaron incrementos de resina compuesta de menos de 2 mm (Filtek Z350 XT, 3M ESPE) hasta completar la cavidad y se fotopolimerizó por 20 segundos cada incremento. Una vez terminado el procedimiento las preparaciones se dejaron sumergidas en suero fisiológico al 0,9% a temperatura ambiente.

Grupo N° 2: Sistema Adhesivo Autograbante (Go). Se eliminó la humedad con papel absorbente. En seguida se aplicó el sistema adhesivo en una capa única y se dejó actuar por 20 segundos, se sopló suavemente con aire por 5 segundos y se fotopolimerizó por 10 segundos con lámpara de fotocurado halógena. Luego de esto se continuó con la aplicación de incrementos de resina de igual forma que el protocolo descrito en el grupo control.

Grupo N° 3: Sistema Adhesivo Autograbante (PLP). Se preparó el sistema adhesivo según las indicaciones descritas en la guía técnica del material. Se presionó el material del reservorio rojo dentro del reservorio amarillo (medio), este luego se vertió a la sección azul y desde esta última, se mezcló el conjunto por 5 segundos. Se consideró una apropiada activación del adhesivo si la punta del aplicador se

encontraba ligeramente teñida de amarillo. Se aplicó sobre la superficie dentinaria por 15 segundos, se sopló 5 segundos y se fotopolimerizó por 10 segundos. Se continuó con los incrementos de resina compuesta de igual forma que el protocolo utilizado en el grupo control.

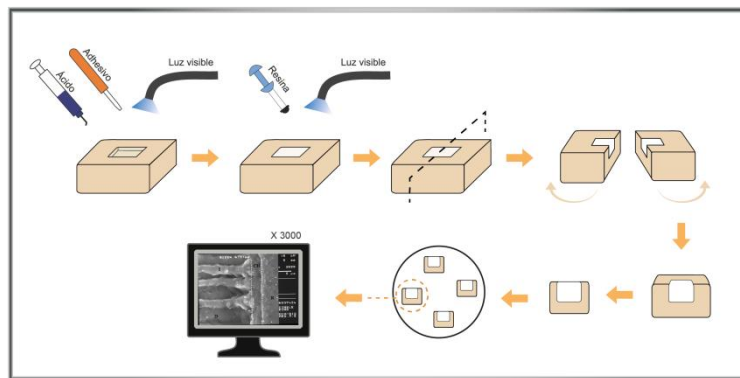
Grupo N° 4: Sistema Adhesivo Autograbante XE. Se preparó el adhesivo y se realizó la técnica, según las indicaciones del fabricante. Se mezcló una gota del *primer* con una del adhesivo en proporción 1:1 por 5 segundos. Se aplicó con microaplicador frotando la superficie dentinaria y se dejó reposar por 20 segundos para luego soplar por 2 segundos y se fotopolimerizó por 10 segundos. Una vez obtenida una superficie brillante se continuó con los incrementos de resina según protocolo descrito en el grupo control.

Observación de las muestras mediante microscopía electrónica de barrido.

Las muestras en estudio fueron procesadas en la Unidad de Microscopía Electrónica-CESAT, Instituto de Ciencias Biomédicas-ICBM, Facultad de Medicina. Universidad de Chile, Santiago, Chile. Las muestras fueron examinadas mediante MEB (Zeiss, modelo DMS 940, NY, USA), con un potencial de aceleración de 5 a 30 Kv. Las fotografías más representativas para ser analizadas, se obtuvieron con una cámara análoga integrada de 35mm y poder de magnificación de 20.000x (T-Max de Kodak).

Se realizó un primer corte con disco de diamante en sentido vestibulo-palatino/lingual, obteniendo 2 especímenes de cada molar y por ende 4 muestras por grupo. A cada muestra se le realizaron desgastes con fresa de diamante cilíndrica (KG SORENSEN, San Pablo, Brasil) hasta obtener una muestra de 4 mm de largo, ancho y alto, medida necesaria para ser vista en el MEB. Las muestras fueron pulidas en la zona a observar al MEB mediante la siguiente secuencia: lija al agua en orden decreciente (P2000, ISESA S.A., Frauenfeld, Switzerland), secuencia de discos de pulido Sof-lex (3M ESPE) en orden decreciente hasta lograr una superficie uniforme,

plana y brillante. Para eliminar el *smear layer* generado por el proceso de corte y pulido que pudiese interferir con la observación al MEB, se lavó la superficie con ácido ortofosfórico al 37% (Scotchbond TM 3M ESPE) por 5 segundos, con agua destilada por 10 segundos y se secó con aire suave. Las muestras fueron depositadas en una cápsula de petri sobre papel filtro en estufa de secado a 37°C durante 2 días, posteriormente fueron metalizadas por medio de una delgada lámina de oro y paladio (Metalizador Polaron 5000, England). Se realizó el vacío y se comenzó a observar los hallazgos mediante la pantalla del MEB.



Esquema 1. Diseño experimental

Las muestras obtenidas fueron utilizadas para observar al MEB la presencia, el espesor y la uniformidad de la capa híbrida. Además se observó presencia o ausencia de *smear layer* en dentina y *smear plugs* en el interior de los túbulos dentinarios, así como la formación de *tags* de resina su longitud y grosor para los diferentes sistemas adhesivos del estudio.

Se obtuvieron para cada sistema adhesivo un total de 20 microfotografías, sobre las más representativas para el estudio, se realizaron las observaciones y mediciones necesarias para analizar y comparar las características de la capa híbrida formada en dentina con adhesivo con grabado previo y sistemas autoacondicionantes de diferente pH. Las mediciones fueron realizadas con el MEB (Zeiss, modelo DMS 940, NY, USA).

7.5 Resultados

Todos los sistemas adhesivos en estudio mostraron formación de capa híbrida, tanto los sistemas de autograbado como el adhesivo con grabado previo (SB) (Fig.1). Es posible comprobar la presencia de *smear layer* en las muestras acondicionadas con los sistemas adhesivos de autograbado Go!, (PLP) y (XE) (Fig. 1B, C, D). El sistema de autograbado leve no modificó de manera notoria la capa de *smear layer*, donde se pueden visualizar escasos *tags* (Fig.1B). Para los sistemas adhesivos de autograbado moderado (Fig.1C) y agresivo (Fig.1D) se observó menor presencia de *smear layer* y los *tags* se presentaron en mayor número, en comparación con el adhesivo de pH leve. En la técnica, con acondicionamiento ácido previo (Fig. 1A) el *smear layer* no fue detectado y los *tags* de resina se presentaron de manera nítida en toda su extensión, a diferencia de lo que muestran los adhesivos de autograbado.

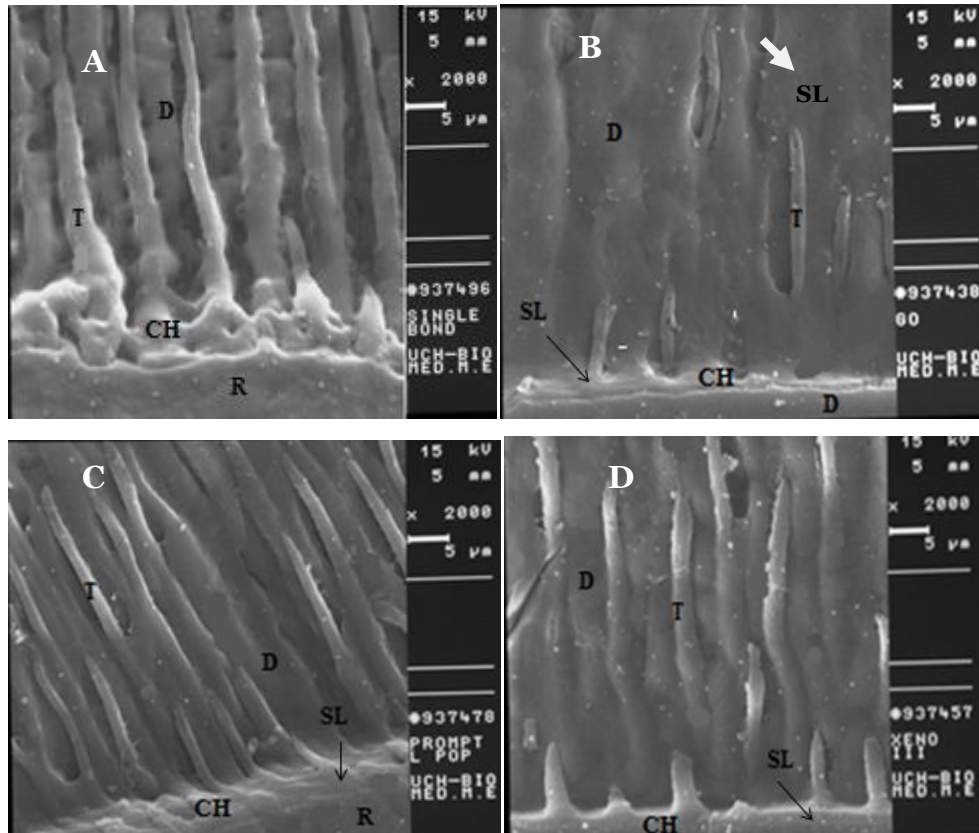


Fig. 1 Observación de *smear layer* y formación de *tags* de resina. Los ejemplares se prepararon como se indica en la sección de metodologías y fueron observados con microscopía electrónica de barrido de 2.000x. Panel 1A: sistema (SB), 1B: autoacondicionante Go!, 1C: sistema adhesivo PLP, y 1D: adhesivo autograbador XE. Las imágenes presentadas son representativas de todas las analizadas.

Grosor de capa híbrida

El grosor de la capa híbrida formada por los diferentes sistemas adhesivos en estudio resultó variable en cuanto a su extensión. Hubo una clara diferencia entre el sistema adhesivo con grabado previo, el que mostró el mayor espesor de capa híbrida con 4,11 μm (Fig. 2A) y los sistemas adhesivos de autograbado (Fig. 2B, C, D). Los adhesivos autoacondicionantes de pH leve y moderado presentaron capas híbridas de espesor semejante 2,78 y 2,18 μm , respectivamente (Fig. 2B, 2C). El adhesivo de autograbado fuerte (XE) generó la capa híbrida de menor grosor 1,57 μm (Fig. 2D).

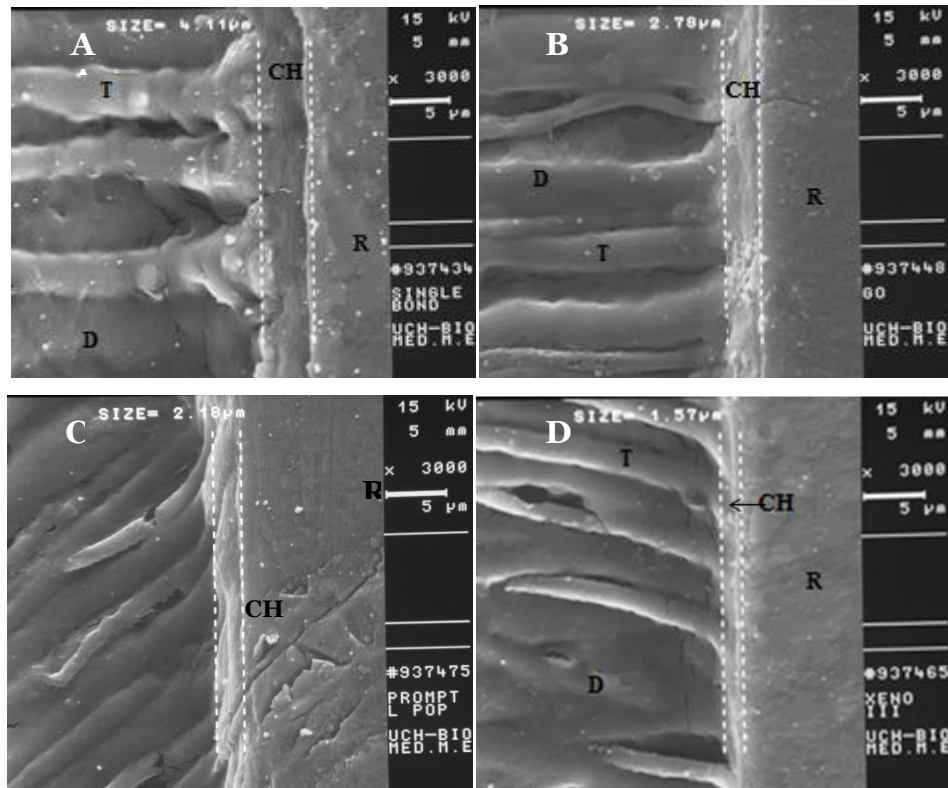


Fig. 2 Observación de Capa híbrida obtenida con los diferentes tipos de adhesivos. La capa híbrida se indica entre las líneas blancas con aumento de 3000x. Panel 2A muestra el espesor obtenido con el sistema adhesivo SB, 2B: sistema autoacondicionante Go!, 2C: sistema adhesivo PLP y 2D: adhesivo autograbador XE. Las imágenes presentadas son representativas de todas las analizadas.

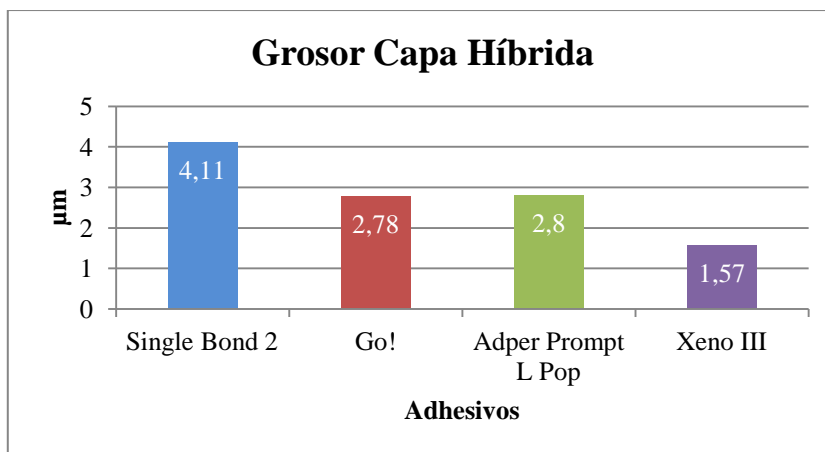


Fig. 3 Grosor comparativo de la capa híbrida en los distintos adhesivos (µm). Las barras corresponden a las dimensiones de la capa híbrida medidas en las microfotografías electrónicas obtenidas a 3000x, entre los diferentes sistemas adhesivos indicados.

Tags de Resina

Los *tags* de resina generados por los sistemas adhesivos de autograbado observados al MEB son delgados, irregulares, estrechos en su base y en su extensión (Fig. 4B, C, D). Existiendo notoria diferencia en relación al sistema adhesivo con grabado ácido previo SB donde los *tags* observados al MEB, muestran bases amplias se aprecian más regulares y de mayor espesor 4,72 µm (Fig. 4A). De los sistemas autograbantes, el de pH fuerte XE presenta los *tags* de resina de mayor grosor con un valor de 3,08 µm (Fig. 4D). Los adhesivos de pH leve y moderado generaron *tags* de espesor similar, de 1,81 µm (Fig. 4B, C).

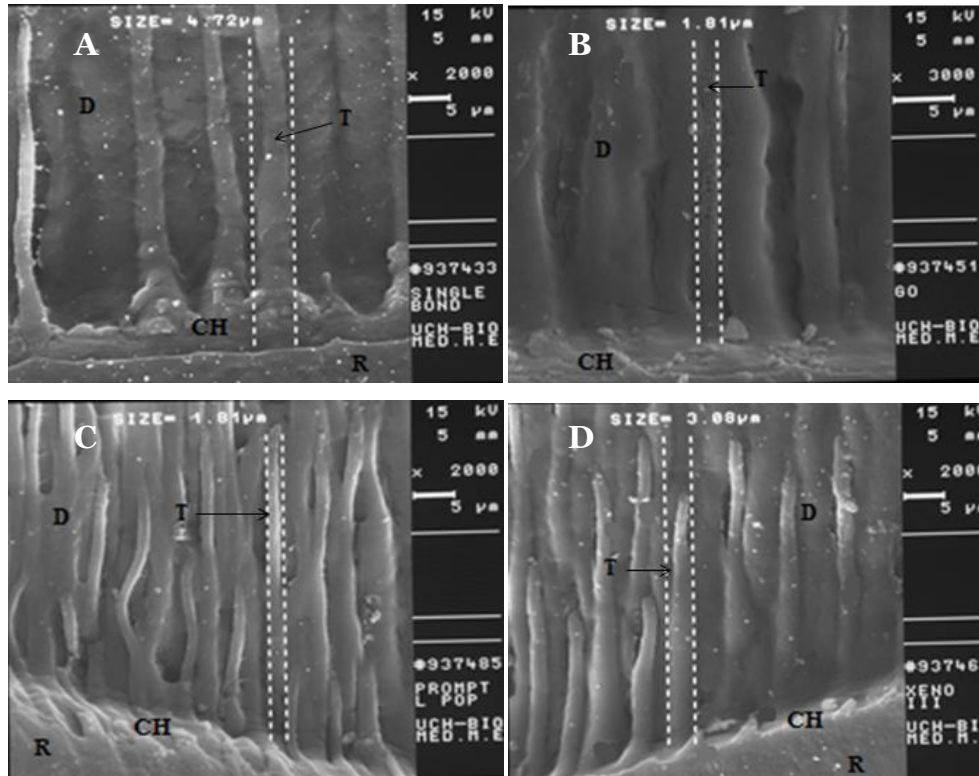


Fig. 4 Grosor tags de resina generados por los diferentes sistemas adhesivos. Espesor de los tags se señala entre líneas blancas, con aumento 2000x. El panel 4A muestra tags generados por sistema adhesivo SB, 4B: (3000x) autograbante Go!, 4C: sistema PLP y 4D: sistema autotacondicionante XE. Las imágenes presentadas son representativas de todas las analizadas.

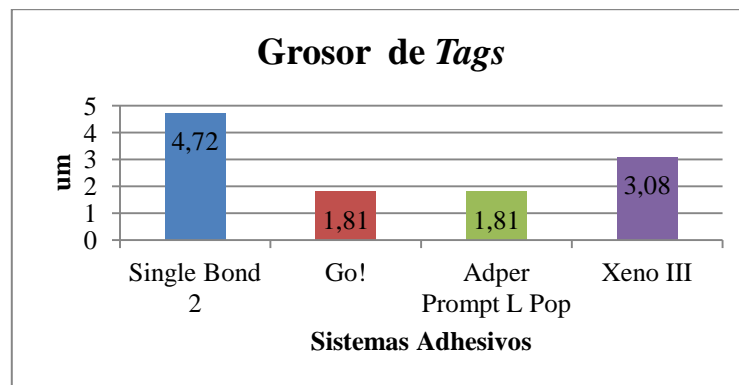


Fig. 5 Grosor comparativo de los tags de resina en los distintos adhesivos (μm). Las barras corresponden a las dimensiones de los tags medidos en las microfotografías electrónicas obtenidas a 2000 x, entre los diferentes sistemas adhesivos indicados.

Extensión *tags* de resina

La extensión de los *tags* de resina para los diferentes sistemas adhesivos en estudio resultó variable en relación a su longitud. Con una clara diferencia entre el sistema adhesivo con acondicionamiento ácido previo que muestra la mayor longitud de *tags* 125,7 μm (Fig. 6A) y los sistemas adhesivos de autograbado. Los *tags* generados por los sistemas adhesivos autograbantes de pH moderado y agresivo presentaron longitudes similares 70,4 μm y 69,7 μm respectivamente (Fig. 6C, D). El adhesivo de pH leve generó los *tags* de menor longitud 55 μm (Fig. 6B).

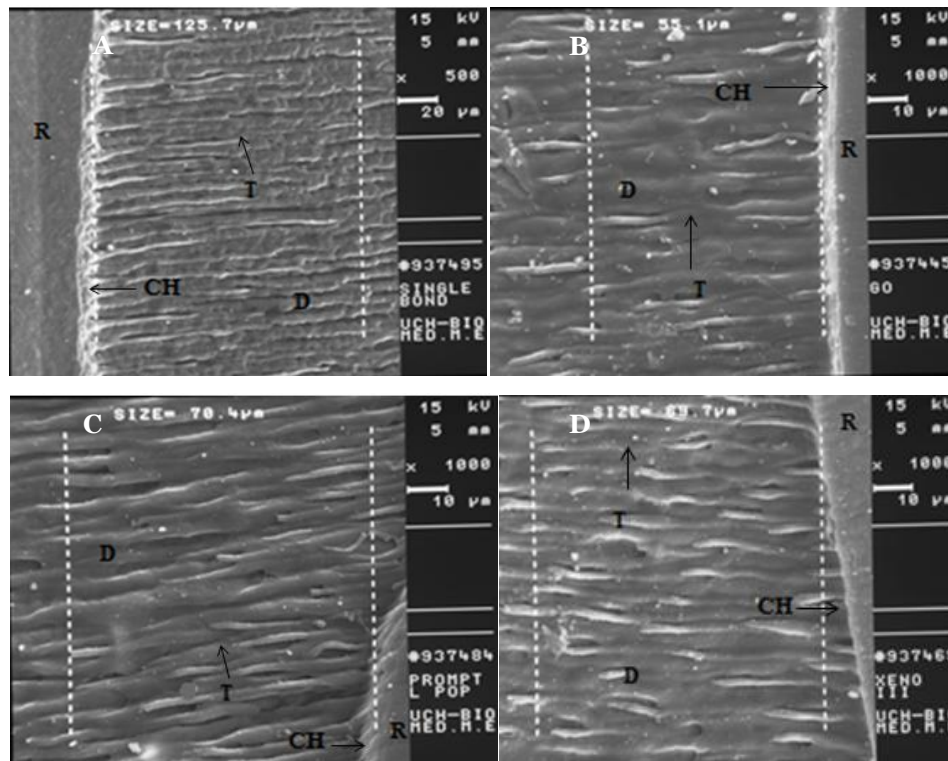


Fig. 6 Longitud *tags* de resina generados por los diferentes sistemas adhesivos.

La longitud se indica entre las líneas blancas con aumento de 1000x. El panel A (500x) muestra la longitud obtenida con el sistema SB, el B longitud de los *tags* con sistema adhesivo Go!, el C la longitud alcanzada con adhesivo PLP y el D la longitud de los *tags* de resina con el adhesivo XE. Las imágenes presentadas son representativas de todas las analizadas.

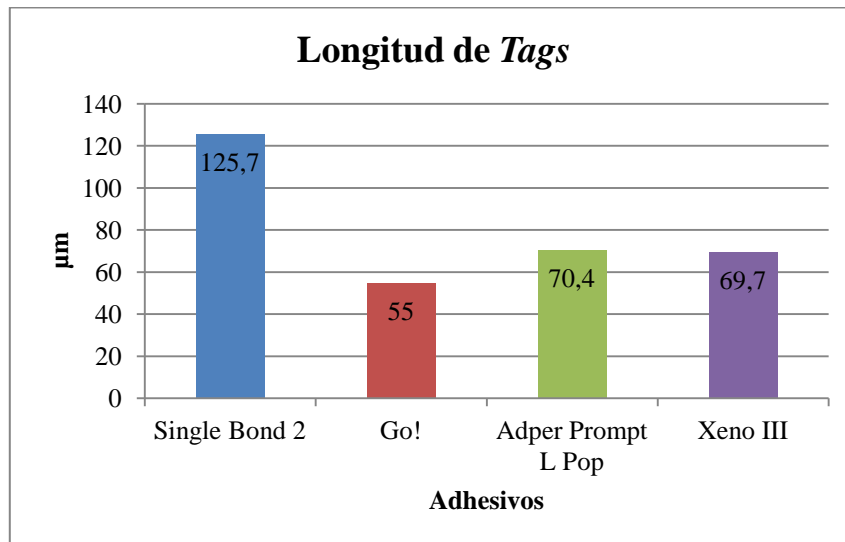


Fig. 7 Longitud comparativa de los *tags* de resina para los distintos sistemas adhesivos (µm). Las barras indican las dimensiones de los *tags* de resina medidas en las microfotografías electrónicas obtenidas a 1000x, entre los diferentes sistemas adhesivos.

Uniformidad y homogeneidad de la capa híbrida.

La uniformidad y homogeneidad de la capa híbrida, formada por los diferentes sistemas adhesivos resultó con diferencias entre el adhesivo con acondicionamiento ácido previo que muestra una capa híbrida uniforme, homogénea y regular en su extensión (fig.8A) y los sistemas adhesivos de autograbado. Las capas generadas por los sistemas de autograbado se presentaron irregulares (Fig. 8B, C, D).

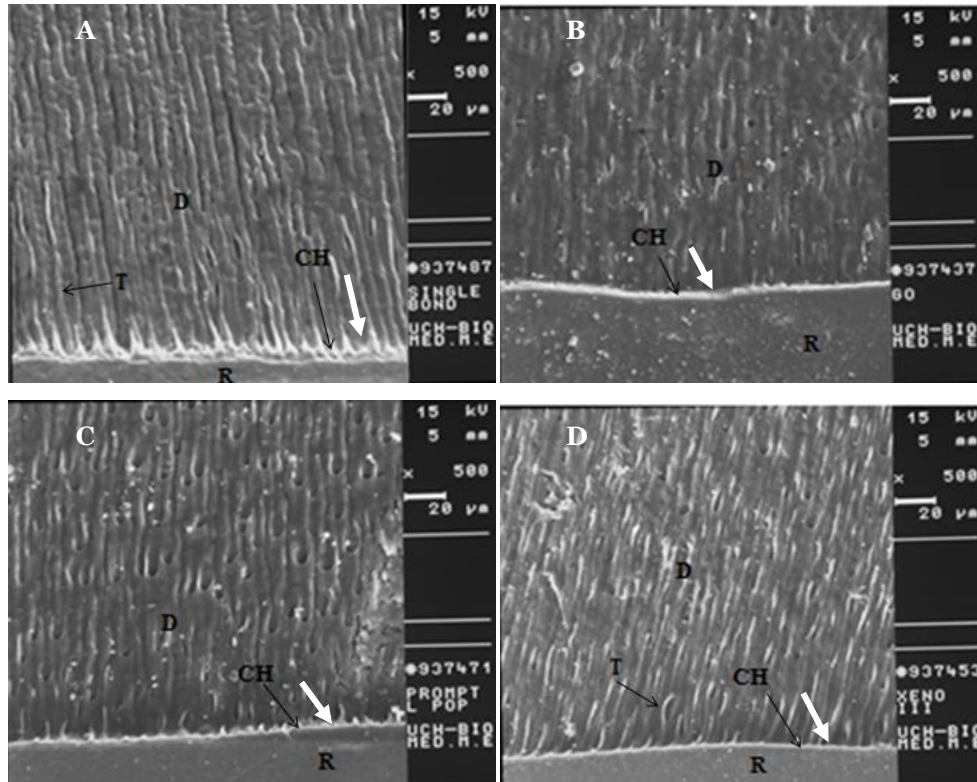


Fig. 8 Observación de Capa Híbrida obtenida con los diferentes sistemas adhesivos. La capa híbrida se indica con flecha blanca y aumento de 500x. El panel A, muestra la uniformidad otorgada por el sistema adhesivo SB. En B se muestra, la capa híbrida con adhesivo Go!. El panel C presenta una muestra de la capa híbrida, obtenida con uso de adhesivo PLP y D ilustra, la capa híbrida con sistema adhesivo XE. Las imágenes presentadas son representativas de todas las muestras analizadas.

7.6 Discusión

Debido a que la dentina es un tejido estructuralmente complejo la adhesión a ella se hace un proceso dificultoso. La calidad de la hibridación generada por los diferentes sistemas adhesivos es considerada esencial para obtener resultados confiables en la unión de los sistemas adhesivos a dentina (Nakabayashi et al, 1998). El presente estudio analizó al MEB la presencia de la capa híbrida formada en dentina tratada con adhesivos autograbantes de distinto pH y la capa híbrida generada con adhesión convencional o grabado previo. Los diferentes pH de los adhesivos de autograbado generan diferencias sobre la profundidad de interacción del adhesivo en dentina en razón de la presencia del *Smear Layer*, Tay y Pashley sostienen que la capacidad de grabado, difusión a través del *Smear Layer* y posterior desmineralización de la dentina esta en directa relación con el pH de los agentes ácidos (Tay y Pashley, 2001). Las características morfológicas de la interface diente adhesivo generada por los adhesivos de autograbado depende en gran medida de la forma en que sus monómeros funcionales interactúan con el sustrato dental (De Munck et al., 2005). Sistemas adhesivos de pH fuerte generan una capa híbrida gruesa de aproximadamente 4 μ m (Van Meerbeek et al, 2011). La formación de *tags* de resina en dentina también estaría condicionada a sistemas autoacondicionantes de pH fuerte (Koshiro et al., 2006). La observación al MEB, debido a su alto grado de magnificación permite analizar el efecto de los sistemas adhesivos sobre la superficie dentinaria, siendo posible observar y comparar la capa híbrida y *tags* de resina entre los distintos sistemas adhesivos (Tay et al., 2000; Van Meerbeek et al., 2003; Reis et al., 2004; Kenshima et al., 2006; Albaladejo et al., 2010). El gran contenido de agua que posee la dentina en su composición, obliga a que los sistemas adhesivos que se apliquen sobre ella contengan monómeros de resina hidrofílicos que faciliten la infiltración del adhesivo en la superficie desmineralizada, lo que ha sido incorporado en los actuales sistemas adhesivos autograbantes. Al incorporar este tipo de moléculas logran mejorar la sensibilidad postoperatoria, el sellado y la microfiltración, ya que pueden garantizar que el adhesivo penetrará de igual forma

que las moléculas acídicas, abarcando toda la zona desmineralizada (Van Meerbeek et al., 2011).

Al tratar la superficie dentinaria con ácido ortofosfórico al 37%, se produce su desmineralización, y eliminación completa del *smear layer*, desde la dentina intertubular y desde el interior de los túbulos. Los adhesivos de autograbado disuelven en forma parcial e incorporan a la capa híbrida formada el *smear layer*, penetran en la dentina subyacente para desmineralizar e impregnar la dentina intertubular dando origen así a la capa híbrida y a los tags de resina (Tay F, Pashley D, 2001). Los resultados encontrados en este estudio son consistentes con lo anterior, ya que fue posible observar la presencia de *smear layer* en relación a los sistemas adhesivos de autograbado utilizados (XE, Go!, PLP) y ausencia en el sistema con grabado previo (SB). (Fig. 1A-1D). Todos los sistemas adhesivos utilizados fueron capaces de formar capa híbrida, sin embargo, mostraron diferencias importantes en cuanto al grosor, las capas híbridas generadas por los sistemas adhesivos de autograbado eran de menor espesor que la del sistema adhesivo con grabado previo que muestra un valor de 4,11 micrones (Fig. 2A-2D) lo que también ha sido reportado por otros autores (Frankenberger et al., 2001; Albaladejo et al., 2010; Van Meerbeek et al., 2011). Esto estaría influenciado por el grabado ácido y la eliminación completa del *smear layer* que facilitaría la impregnación del sistema adhesivo sobre las fibras colágenas en la dentina desmineralizada, a diferencia de lo que sucede con los autograbantes y la presencia del *smear layer*. Los *tags* de resina, están presentes en todos los sistemas estudiados con diferencias apreciables en cuanto a grosor y longitud. Así, el adhesivo con grabado previo (SB) presenta los *tags* de mayor espesor con base amplia y de manera más regular en toda su extensión a diferencia de los sistemas autograbantes (Fig. A3-3D). La técnica de grabado ácido sería la responsable de estos resultados por la desmineralización de la dentina peritubular, la eliminación de los *smear plugs* desde el interior de los túbulos dentinarios, aumentando con esto la permeabilidad y permitiendo la difusión del adhesivo (Nakabayashi 1992; Van Meerbeek B, et al., 2003).

En relación al comportamiento de los adhesivos de autograbado, según su pH, Koshiro et al., 2006 sostienen que podría ser un factor influyente en la formación de *tags* de resina condicionando su longitud y grosor, ya que la desmineralización ocurrida en el sustrato dentinario permite que el sistema adhesivo se infiltre para poder generar los *tags*, logrando así a menor pH mayor superficie desmineralizada y mayor infiltración del adhesivo. El sistema *Xeno III* considerado de pH agresivo es el que posee los *tags* de mayor longitud y grosor (Fig. 3D). Si bien el sistema *Go!* de pH leve presentó *tags* de mayor longitud que los presentados por el sistema (PLP), los resultados pueden verse de cierta forma influenciados por la composición de (PLP) ya que contiene ácido polialquenoico de alto peso molecular, lo que dificultaría la infiltración y difusión del adhesivo a través de los túbulos dentinarios (Fig. 3C). Sin embargo la mayor longitud de los *tags* en los túbulos para algunos autores no contribuye significativamente a la resistencia final de la adhesión (Tagami J et al; 1990; Van Meerbeek et al., 1992; Tam LE et al., 1994) y más importante sería la adaptación del sistema adhesivo en las paredes internas de los túbulos (Van Meerbeek et al, 1992). Los *tags* generados por el adhesivo SB se muestran con mejor adaptación en el interior de los túbulos y más regulares en su base (Fig. 1A- 2A- 4A). Esto puede ser considerado como resultado de una buena impregnación por parte del adhesivo lo que asegura una correcta impermeabilización y sellado de la interface adhesiva (Tay, FR., et al, 2000). El grosor de la capa híbrida generada para cada uno de los sistemas adhesivos también puede ser influenciada por el porcentaje de relleno de los sistemas adhesivos (Harada et al., 2006). El adhesivo SB contiene un 10 % en peso de nanorrelleno de sílice de 5 nm de diámetro aproximadamente, Go posee un 7 % de nanorrelleno, XE contiene un 4 % de nanorrelleno y PLP no presenta relleno en su composición. Lo observado en este trabajo es concordante para SB que presentó el mayor espesor de capa híbrida y presenta el mayor porcentaje de relleno, sin embargo no hay relación para lo observado con XE que a pesar de poseer relleno fue quien presentó el menor espesor de capa híbrida y PLP que no tiene relleno presentó mayor grosor de capa híbrida que XE (Fig. 3). Se requiere de 10 a 40% de relleno en la composición de los sistemas adhesivos para obtener la máxima fuerza de unión a dentina (Miyazaki et al., 1995). En cuanto a la homogeneidad y uniformidad de la

capa híbrida, los cuatro sistemas adhesivos en estudio generaron capas híbridas homogéneas y uniformes (Fig. 4A-4D), siendo de mejores características la formada por el sistema adhesivo con grabado previo (SB), asociado a la eliminación del *smear layer* durante la técnica de grabado total en que se favorece la infiltración, difusión e interacción del sistema adhesivo con el sustrato dentinario. El sistema adhesivo SB utilizado con la técnica de grabado ácido generó las mejores características para la adhesión, por la presencia de una capa híbrida homogénea y uniforme, *tags* de resina de gran longitud siendo muy similares y uniformes en sus medidas, a diferencia de los adhesivos de autograbado que presentaron *tags* con medidas más variable e irregulares entre los de mayor y menor longitud. El grosor la adaptación y la cantidad de *tags* observada a la microfotografía electrónica fue superior a los presentados por los sistemas de autograbado, además de observarse una unión más homogénea de base amplia y uniforme entre los *tags* de resina y la capa híbrida (Fig. 4 y Fig.5). Si bien la técnica de grabado total es cuestionada por la desmineralización en profundidad más allá de la capacidad que posee el adhesivo de difundir e impregnar, todos los adhesivos de autograbado independiente de su pH fueron capaces de interactuar con el *smear layer*, difundir a través de él y formar *tags* de resina.

7.7 Conclusión

Dentro de las limitaciones de este estudio se puede concluir que la observación al MEB mostró que el sistema adhesivo con grabado previo presenta las mejores características en la unión dentina-resina al observarse una capa híbrida homogénea, uniforme con numerosos *tags* de resina de base amplia y adecuada longitud, siendo esto signos de una correcta infiltración por parte del sistema adhesivo. Existiendo una tendencia en los sistemas adhesivos autograbantes de menor pH a mostrar una unión dentina-resina con mejores características ultraestructurales que los adhesivos de mayor pH.

7.8 Bibliografía

1. Aguilera F, Osorio R, Toledano M. (2004). Control del colapso del colágeno: sistemas autograbadores. *Av.Odontoestomatol*, 20-4: 175-183.
2. Albaladejo A, Osorio R, Toledano M, Ferrari M. (2010). Hybrid layers of etch-and-rinse versus self-etching adhesive systems. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 1;15 (1): e112-8
3. Cardoso M V, de Almeida Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, y Van Meerbeek B. (2011). Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J*, 56 *Suppl 1*, 31-44.
4. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, et al. (2007). *In vivo* preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res*, 86:529-33.
5. De Munck J, Vargas M, Iracki J, Van Landuyt K, Poitevin A, Lambrechts P, et al., (2005) One-day bonding effectiveness of new self-etch adhesives to bur-cut enamel and dentin. *Oper Dent*; 30:39–49.
6. De Munck J, Shirai K, Yoshida Y, Inoue S, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. (2006). Effect of water storage on the bonding effectiveness of 6 adhesives to Class I cavity dentin. *Oper Dent*, 31(4), 456-465.
7. Ferrari M, Tay FR. (2003). Technique sensitivity in bonding to vital, acid-etched dentin. *Oper Dent*, 28:3–8.
8. Frankenberger R, Perdigao J, Rosa BT, Lopes M. (2001). No-bottle vs multi-bottle dentin adhesives- a microtensile bond strength and morphological study. *Dent Mater*, 17:373-80.
9. Grégoire G, Millas A. (2005). Microscopic evaluation of dentin interface obtained with 10 contemporary self-etching systems: correlation with their pH. *Operative Dentistry*. 30:481-91.

10. Harada T. (2006). Effect of the Number of Coats of Simplified Adhesive Systems on Microleakage of Dentin-Bordered Composite Restorations. *Journal Of Contemporary Dental Practice*. Vol. (7)5: p.34-41.
11. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Endo K, Oguchi H. (2002). The extent to which resin can infiltrate dentin by acetone-based adhesives. *J Dent Res*, 81:74 –78.
12. Kenshima S, Francci C, Reis A, Dourado A, Rodriguez L. (2006). Conditioning effect on dentin, resin tags and hybrid layer of different acidity self-etch adhesives applied to thick and thin smear layer. *Journal of Dentistry* 34 : 775-783
13. Koshiro K, Sidhu SK, Inoue S, Ikeda T, Sano H. (2006). New concept of resin-dentin interfacial adhesion: the nanointeraction zone. *Journal Biomed Mater Res B Appl Biomater*; 77:401–8.
14. Li H, Burrow MF, Tyas MJ. (2000). Nanoleakage patterns of four dentin bonding systems. *Dent Mater*, 16:48 –56.
15. Miyazaki M, Ando S, Hinoura K, Onose H, Moore BK. (1995). Influence of filler addition to bonding agents on shear bond strength to bovine dentin. *Dent Mater*; 11:234–8.
16. Nakabayashi N, Kojima K, and Masuhara E. 1982. The promotion of adhesion by infiltration of monomers into tooth substrates. *Journal Materials Research* Vol 16: 265- 273
17. Nakabayashi N, Ashizawa M, and Nakamura M. 1992. Identification of a resin – dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo durable bonding to vital dentin. *Quintessence International*, 23: 135- 141.
18. Nakabayashi N, Pashley D. (1998). *Hybridization of dental hard tissues*. Quintessence, Tokyo, Japan:
19. Osorio R, toledano M, De Leonardi G, Tay F. (2003). Microleakage and interfacial morphology of self-etching adhesives in class V resin composite restorations. *J Biomed Mater Res. B Appl Biomater* 66: 399-409

20. Pashley D, Yoshiyama M, Tay F. 2002. Two modes of nanoleakage Expression in Single- Step Adhesives. *Journal of Dental Research* Vol. 81(7): 472- 476
21. Pashley D H, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. (2004). Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *Journal of Dental Research*, 83(3), 216-221.
22. Perdigao J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Tome AR, Vanherle G, Lopes AB. (1996). Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. *Dent Mater*, 12: 262–271.
23. Reis AF, Arrais CA, Novaes P, Carvalho RM, De Goes MF, Giannini M. (2004) Ultramorphological Analysis of Resin–Dentin Interfaces Produced with Water-Based Single-Step and Two-Step Adhesives: Nanoleakage Expression.: *InterScience*, 90-98
24. Salvio LA, Di Hipólito V, Martins LA, De Goes MF. (2013). Hybridization quality and bond strength of adhesive systems according to interaction with dentin. *European Journal of Dentistry*, 7: 315-326
25. Sánchez F, Osorio R, Toledano M. (2004). Control del colapso del colágeno: Sistemas autograbadores. *Av. Odontoestomatol.* 175-183p.
26. Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. 1994. Microporous dentin zone beneath resin – impregnated layer. *Operative Dentistry*. Vol. 19: 599 – 664
27. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. (1995). Nanoleakage: Leakage within the hybrid layer. *Oper Dent*, 20:18 –25.
28. Tagami J, Tao L, Pashley DH. (1990). Correlation among dentin depth, permeability, and bond strength of adhesive resins. *Dent Mater*. 6:45-50.
29. Tam LE, Pilliar RM. (1994). Fracture surface characterization of dentin-bonded interfacial fracture toughness specimens. *J Dent Research*; 73:607-19.
30. Tay F, Pashley D. (2001). Agressiveness of contemporary self-etching systems. I. Depth of penetration beyond dentin smear layer. *Dent Mat*, 17:296-308

31. Tay FR, Sano, H, Carvalho R, Pashley EL, Pashley DH. (2000). An ultrastructural study of the influence of acidity of self-etching primers and smear layer thickness on bonding to intact dentin. *Journal of Adhesive Dentistry*, 2:83-98.
32. Tay FR, Carvalho R, Sano H, Pashley DH. (200) Effect of smear layers on the bonding of a self-etching primer to dentin. *Journal of Adhesive Dentistry*, 2:99-116
33. Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. (2002). Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res*, 81: 472–476.
34. Tay FR, Pashley DH. (2003) Water treeing—A potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am. J Dent*, 16:6 –12.
35. Vaidyanathan T, Vaidyanathan J. 2009. Recent advances in the theory and mechanism of adhesive resin bonding to dentin : a critical review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B; Applied Biomaterials*. Published online in Wiley Inter Science.
36. Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. (1992). Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res*, 71:1530-40.
37. Van Meerbeek B, De Munch J, Yoshida Y, et al. 2003. Buonocuore memorial lectura. Adhesión to enamel and dentine: Current status and future challenges. *Operative Dentistry*. Vol. 28: 135 – 215.
38. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. (2011). State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater*, 27:17-28.
39. Wang Y, Spencer, P. (2003). Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res*, 82:141-145.

40. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Van Meerbeek B. (2004). Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res*, 83(6), 454-458.
41. Zhang SC, Kern M. (2009). The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *Int J Oral Sci*, 1:163-176.

Capítulo 3

Inhibición de la Actividad Cariogénica de Sistemas Adhesivos Autograbadores de Distinto pH en un Modelo de Caries con Biofilms en Dentina.

8.1 Resumen

Objetivo: La relevancia de la caries secundaria asociada a restauraciones de resina compuesta es innegable, dada por la gran cantidad de restauraciones realizadas con este material. El objetivo de esta investigación, entonces, es analizar el efecto de un biofilm cariogénico sobre sistemas adhesivos con grabado previo y adhesivos autograbantes de diferente pH. **Métodos:** Se formarán biofilms de *S. mutans* UA159 sobre bloques de dentina tratados previamente con sistemas adhesivos con grabado previo Adper Single Bond 2, 3M ESPE, sistemas adhesivos autograbantes Go!, SDI, Single Bond Universal, 3M ESPE, Xeno III, Dentsply por 4 días. Se usó NaCl al 0,9% como control negativo y sacarosa al 10% como control positivo de desmineralización. Los bloques con biofilm fueron expuestos a los tratamientos 3 veces al día, por 5 minutos. Se midió el pH de los cultivos 2 veces al día. Al cuarto día se extrajo el biofilm de los bloques para determinar biomasa, recuento de microorganismos viables y acidogenicidad de los medios. La desmineralización se estimó midiendo la dureza transversa para establecer el porcentaje de pérdida de dureza transversa (%PDS). **Resultados:** Los biofilms de *S. mutans* sometidos a sacarosa y al sistema adhesivo con grabado previo SB resultaron ser más cariogénicos que los biofilms sometidos a Go, U y XE. Las exposiciones a sacarosa en los bloques tratados con SB resultaron en mayor desmineralización de la dentina, biomasa y bacterias. El pH de los medios de cultivo de todos los sistemas adhesivos resultó ser acidogénico ($p < 0,0001$) presentando un comportamiento similar al control positivo (sacarosa 10%). **Conclusión:** El sistema adhesivo con grabado previo no es capaz de inhibir el ataque ácido inducido por la sacarosa, generando cambios en el biofilm, y en los bloques de dentina que fueron semejantes a los producidos por sacarosa. Los adhesivos autograbantes, en cambio no mostraron diferencias al compararlos con el control negativo y aparentemente poseerían un efecto inhibitorio de la cariogenicidad, al menos en este modelo de caries secundaria.

Palabras claves: Biofilms, Dentin-bonding agents, Matrix metalloproteinase (MMPs), Biodegradation, Resin-composites, Dental caries.

8.2 Abstract

Aim: The relevance of secondary caries associated to composite resin restorations is undeniable, as many restorations are made with this material. The purpose of this research is to analyze the effect of cariogenic a biofilm on etch and rinse and different pH self-etch adhesive systems. **Methods:** UA159 *S. mutans* biofilms will be developed over dentin blocks previously treated with etch and rinse Adper Single Bond 2, 3M ESPE adhesive (SB), and self-etch adhesives Go!, SDI (Go), Single Bond Universal, 3M ESPE (U) and Xeno III, Dentsply (XE) for 4 days . Demineralization negative control was saline solution (0,9% NaCl) and 10% sucrose was the positive control. Blocks with biofilm were exposed to treatments 3 times a day for 5 minutes. pH was measured in the culture media twice a day. On the fourth day, the biofilm was extracted to measure biomass, count viable microorganisms and measure acidogenicity of the media. Demineralization was estimated measuring transverse hardness to establish a percentage of transverse hardness loss (%THL). **Results:** *S. mutans* biofilms exposed to sucrose and etch and rinse SB resulted in higher cariogenicity than biofilms exposed to Go, U and XE. Exposal to sucrose in dentin blocks treated with SB resulted in higher dentin demineralization, biomass and bacterial counts. All adhesive culture media pH resulted to be ($p < 0.0001$), with a similar behavior to 10% sucrose. **Conclusion:** Etch and rinse adhesive system was not able to inhibit the acid attack induced by sucrose, generating changes in biofilm and dentin blocks, which were similar to those in dentin blocks untreated and exposed to sucrose. On the other hand, self-etch adhesives showed no difference with the negative control and apparently inhibited cariogenicity, at least in this secondary caries model.

Keywords: Biofilms, Dentin-bonding agents, Matrix metalloproteinase (MMPs), Biodegradation, Resin-composites, Dental caries.

8.3 Introducción

La caries dental es considerada una enfermedad multifactorial donde los tejidos duros del diente son destruidos producto de los ácidos de la placa bacteriana (Fejerskov, 2004; Ten Cate, 2006; Selwitz et al., 2007). Dentro de las múltiples especies que conforman el biofilm oral, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), es considerada una de las más cariogénicas, dada su capacidad de ser acidúrica, acidogénica y acidofílica, fermentando los hidratos de carbono, en especial la sacarosa para producir ácidos (Loesche, 1986; Featherstone, 1996). Para el tratamiento restaurador de la caries dental la resina compuesta es el material de elección más utilizado a nivel mundial por el odontólogo general (Stewardson et al., 2010). Su indicación tanto para dientes anteriores como posteriores sus propiedades estéticas y fácil manipulación hacen de este material la primera elección en operatoria dental (Khalichi et al., 2009). Las restauraciones de resinas compuestas requieren el uso de sistemas adhesivos que generen adhesión a esmalte y a dentina. En la actualidad son dos las principales técnicas utilizadas para la adhesión de la resina al diente: adhesivos con grabado previo sobre el diente y sistemas autoacondicionantes (Van Meerbeek, 2011; Liu et al., 2011). Las propiedades mecánicas, físicas y funcionales de los sistemas adhesivos han mejorado como resultado de numerosas investigaciones que buscan equilibrar la química de sus componentes funcionales hidrófilos e hidrófobos (Samuel et al., 2009; Pashley et al., 2011). Sin embargo, un número importante de estas restauraciones fracasan y son reemplazadas nuevamente por restauraciones que involucran la técnica adhesiva (Murray et al., 2002), siendo la caries secundaria uno de los principales factores etiológicos asociados al fracaso de las restauraciones adhesivas (Deligeorgi et al., 2001; Sakaguchi, 2005; Sarrett, 2005). Esto además se ve incrementado en pacientes con un alto riesgo cariogénico (Roumanas, 2010; Demarco et al., 2012; Opdam et al., 2012; Van de Sande et al., 2013). Se debe asociar además que la resina experimenta contracción volumétrica posterior a la polimerización (Santerre et al., 2001). Dicha contracción genera tensiones que inducen fallas adhesivas en la interface diente / resina y formación de brechas (Kleverlaan et al., 2005). Lo anterior permite la microfiltración de fluidos

salivales, enzimas y microorganismos entre el margen de la restauración y el diente (Lutz et al., 1991; Fruits et al., 2006; Cheng et al 2013a). La investigación acerca de las fallas de las resinas compuestas en la interface diente restauración estuvo centrada en las fallas mecánicas del material (Lee et al., 1969; Taylor et al., 1989). Sin embargo, a partir de la década de 1990 los estudios se volcaron hacia la posibilidad de una degradación química de la resina y de los sistemas adhesivos (Freund et al., 1990; Winkler et al., 1991). Los estudios mostraron una mayor afinidad que tendría *S. mutans* por los materiales en base a resina donde se desarrolla y acumula más biofilm en comparación con el esmalte y otros materiales restauradores como, cerámicas y metales (Svanberg et al., 1990; Beyth et al 2007; He et al., 2011) Habría además una mayor afinidad de las proteínas salivales por los materiales poliméricos (Pedrini et al 2001; Steinberg et al., 2002). *S. mutans* muestra un acelerado crecimiento sobre resinas compuestas *in vitro*, como causas posibles; la presencia de monómeros sin reaccionar que promueven el crecimiento bacteriano, superficies rugosas sin pulir, que facilitan la adhesión bacteriana o ambas (Kawai et al., 2000; Beyth et al., 2008) Estudios actuales, sugieren que *S. mutans*, además de la producción de ácidos presenta actividad de esterasas a niveles capaces de producir la degradación hidrolítica de la resina compuesta y el sistema adhesivo (Bourbia et al., 2013). Esto representa un hallazgo importante y muestra la fragilidad de las resinas y sistemas adhesivos frente a la presencia en la cavidad oral de bacterias acidogénicas contenidas en el biofilm dental. Estas bacterias pueden potencialmente contribuir al deterioro de la interface diente restauración mediante la producción de ácidos y esterasas (Borges et al., 2011), afectando la capa híbrida, comprometiendo la integridad de los márgenes y reduciendo la longevidad de la restauración. También se ha reportado que la capa híbrida es susceptible a la degradación en presencia de enzimas proteolíticas conocidas como metaloproteinasas de la matriz (MMPs) (Verma et al., 2007), lo que compromete la interface dentina / resina (Tezvergil et al., 2011). Para que este proceso se inicie es necesario la activación de estas enzimas, estudios recientes sugieren que las MMPs de la saliva y las que están presentes en el colágeno pueden activarse bajo condiciones ácidas (Chaussain-Miller et al., 2006; Zhang et al., 2009; Tezvergil-Mutluay et al., 2011). En consecuencia pueden ser

activadas durante el acondicionamiento ácido de la dentina en presencia de los diferentes sistemas adhesivos o por el ambiente ácido, resultante del proceso de caries biológica en la interface diente restauración (Shimada et al 2009; Tezvergil-Mutluay et al., 2011). Según la evidencia conocida, para mejorar la longevidad de la resina y sistemas adhesivos se requiere el control de varios factores, relacionados con propiedades físicas, mecánicas, biológicas y químicas del material. En teoría, al menos, el contar con una capa híbrida de mejor calidad para hacerla menos susceptible frente a la acción degradadora del biofilm bacteriano, es un propósito deseable. Las características morfológicas de la interface diente adhesivo producida por los adhesivos de autograbado depende en gran medida de la forma en que sus monómeros funcionales interactúan con el sustrato dental (De Munck et al., 2005). La interacción en profundidad será variable en razón de sistemas con pH suave moderado o fuerte (Koshiro et al., 2006). El espesor de las capas híbridas generadas será dependiente entonces del pH, donde capas más gruesas se obtendrán con pH menores (Van Meerbeek et al., 2011). Los sistemas de autograbado suave desmineralizan la dentina solo parcialmente dejando una gran cantidad de cristales de hidroxiapatita alrededor de las fibras de colágeno. Este permanece encapsulado y por tanto protegido por la hidróxiapatita (Van Meerbeek et al., 2003). El colágeno dentinario expuesto por un procedimiento de grabado- lavado se ha reportado ser altamente vulnerable a los procesos de degradación hidrolítica y enzimática (Pashley et al., 2004; Breschi et al., 2008). Los adhesivos de autograbado fuerte generan efectos más profundos en la desmineralización de la dentina. La ultra- estructura interfacial producida es semejante a los adhesivos de grabado y lavado, pero se diferencia por la presencia de cristales de fosfato de calcio disueltos que no se lavan. La presencia de estos, se espera sean muy inestables en un medio acuoso, debilitando la integridad de la interface (Van Meerbeek et al., 2011). Estudios *in vitro* han mostrado bajo desempeño en dentina para adhesivos de autograbado fuerte, en relación a la durabilidad de la unión y longevidad de la restauración (Shirai et al., 2005). Siendo esto, atribuido a la baja estabilidad hidrolítica de los fosfatos de calcio presentes y a la falta de interacción química estable con el colágeno expuesto (Yoshida et al., 2001). Los adhesivos de autograbado se enfrentan a otra problemática

como es la presencia del *smear layer*, ya que deben ser capaces de disolverlo para obtener una unión satisfactoria a la superficie del diente (Tay et al., 2000). Sin embargo, se ha reportado que adhesivos definidos como suaves fallan predominantemente bajo la capa híbrida después del envejecimiento en agua, asociado esto a una remoción insuficiente del *smear layer* (Van Landuyt et al., 2010). Así, el éxito clínico en el tiempo de las restauraciones de resina compuesta depende en gran medida de la integridad física y química de la interface entre el diente y la restauración (Spencer et al., 2010). Interface que estará expuesta a diversos eventos incluyendo la exposición al biofilm oral y la consiguiente acumulación de bacterias que pueden dar inicio a la degradación de la resina compuesta y su unión al diente.

La relevancia de la caries secundaria en restauraciones de resina compuesta es innegable, dada la gran cantidad de restauraciones realizadas con este material. El hecho que aún no sea claro cómo conseguir adhesión al tejido dentario para garantizar una unión que ofrezca un sello efectivo contra la penetración de bacterias o de los productos asociados al biofilm dental, hace necesario indagar más sobre el tema. El objetivo de esta investigación, entonces, fue analizar el efecto de un biofilm cariogénico sobre sistemas adhesivos con grabado previo y adhesivos autograbantes de diferente pH, simulando un modelo homologable a lo que podría ocurrir en la interface diente restauración en caries secundaria.

8.4 Metodología

Preparación de los bloques

Para este estudio *in vitro* se seleccionaron 36 terceros molares humanos con indicación de extracción por ortodoncia, los que debían cumplir con los siguientes criterios de inclusión: Ausencia de lesiones de caries, obturaciones, defectos estructurales, superficie oclusal mayor o igual a 16 mm² y desarrollo radicular completo. Los dientes se prepararon con instrumental manual de periodoncia (Jacket N° 30-31, H-Friedy, USA) y ultrasonido (Cavitron Bobcat Pro 115u, Dentsply, USA) para el retiro de restos orgánicos. Los dientes fueron almacenados a temperatura ambiente por 30 días en NaCl al 0,9% (Lab. Sanderson S.A, Santiago, Chile) la solución fue renovada cada siete días. A partir de estos dientes se obtuvieron bloques de dentina (6x5x3 mm) usando para ello discos diamantados (Komet 918B, Lemgo, Germany) en pieza de mano. Los bloques fueron preparados por un solo operador, estandarizados mediante un calibrador digital (Modelo: CD-8 UC. Mitutoyo Corp, Japón), las superficies se desgastaron y pulieron con lija al agua granulación 320, 500 y 1200-grit (ISESA S.A, Rauenfeld, Switzerland), el pulido final se realizó con secuencia de discos Sof-lex (3M, St. Paul MN, USA) en orden decreciente. La dureza inicial para cada bloque de dentina se determinó haciendo 3 indentaciones, espaciadas 100 µm entre sí, por medio de microindentación Knoop con una carga de 10 gr por 5 segundos, con microdurómetro (402 MVD, Wolpert Wilson Instruments, Norwood, USA). Los bloques fueron sellados por 2 capas de barniz (Xtreme Wear, Sally Hansen, USA), dejando solo la superficie previamente indentada y pulida libre, fueron asignados aleatoriamente a uno de los 6 grupos experimentales en triplicado. Los bloques fueron suspendidos dentro de un pocillo, en placas de cultivo de 24 pozos, mediante un armazón metálico y esterilizados por exposición a óxido de etileno (Thomas et al., 2007).

Procedimientos Adhesivos

En el estudio se utilizaron cuatro sistemas adhesivos, divididos en dos categorías: adhesivo con grabado previo (Grupo Control), Adper Single Bond 2 (SB) (pH 4.3) (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) y tres sistemas autoacondicionantes de diferente pH (grupos experimentales). Go! (Go), pH leve (2,05) (SDI, Victoria, Australia), Single Bond Universal (U), pH leve (2,7) (3M ESPE), Xeno III (XE), pH agresivo (0,98) (Dentsply, Konstanz, Germany). Antes de proceder con las diferentes técnicas adhesivas se midió el pH de cada uno de los materiales a utilizar por medio de un microelectrodo (HI 1083B, Hanna Instruments, Rumania) acoplado a un pH metro digital (HI 9126-02, Hanna Instruments, Rumania).

Tabla 1. Grupos Experimentales.

Grupo	Inductor	Tratamiento	Nombre
1	Sacarosa 10%	Sin tratamiento	Control positivo
2	Sacarosa 10%	Grabado+Sistema Adhesivo	SB
3	Sacarosa 10%	Adhesivo autograbante	Go!
4	Sacarosa 10%	Adhesivo autograbante	U
5	Sacarosa 10%	Adhesivo autograbante	XE
6	NaCl 0,9%	Sin tratamiento	Control negativo

Diseño Experimental

Para el presente estudio se utilizó una adaptación a partir de un modelo de caries dentinaria previamente validado (Ccahuana-Vásquez and Cury, 2010), para el estudio de la penetración bacteriana a través de biomateriales dentales (Contardo et al., 2015). Colonias de *S. mutans* UA159 congeladas a -20°C fueron reactivadas en caldo BHI (Brain Heart Infusion, Merck, New Jersey, USA) suplementado con glucosa al 10% e incubadas a 37°C y 10% de CO₂ por 18 horas (Multigas Incubator, Panasonic, MCO-19M, Osaka, Japón). El crecimiento bacteriano se ajustó a una densidad óptica de (0.8-1 a 600 nm). 100 µL de este inóculo se transfirieron a 50 mL de medio BHI suplementado con sacarosa al 1% para formar el biofilm adherente (Koo et al., 2003). Luego de homogenizar el cultivo, se colocaron 2 mL en cada pozo de la placa de cultivo. Al mismo tiempo los bloques de dentina humana esterilizados y con los tratamientos adhesivos respectivos fueron inmersos en saliva estéril por 30 minutos

para formar una película adquirida. Luego, fueron ubicados en la placa de cultivo que contenía BHI con *S. mutans* e incubados a 37°C, 10% CO₂ por 8 horas. Los bloques fueron mantenidos en BHI suplementado con glucosa al 0,1 mM por 16 horas adicionales, a modo de simular la concentración de glucosa basal en la saliva (Ccahuana-Vásquez and Cury, 2010) y hasta completar 24 horas, tiempo en el cual el biofilm está ya adherido y en condiciones de ser expuesto a los tratamientos. El experimento completo fue repetido 2 veces y cada condición hecha en triplicado.

Exposición de los biofilms

Los bloques de dentina previamente distribuidos en los grupos experimentales, fueron transferidos a una nueva placa donde se aplicaron los tratamientos e iniciaron un ciclo de exposición diaria, a sacarosa al 10% durante 5 minutos tres veces al día en horarios determinados (09:00, 13:00 y 17:00 horas.). Luego de la aplicación, los biofilms fueron lavados con NaCl al 0,9% y recolocados en la placa original con caldo de cultivo BHI suplementado con glucosa 0,1 mM, el cual fue cambiado dos veces al día, antes de la primera exposición a los tratamientos y después de la última exposición diaria. El experimento se extendió por cuatro días.

Acidogenicidad del biofilm

Se realizó un modelo cíclico de pH obtenido por la exposición del biofilm a sacarosa tres veces durante el día y a glucosa por la noche, de tal manera de emular lo que ocurre en la cavidad oral. A modo de verificar la producción de ácido por los biofilms formados en la dentina, el pH del medio de cultivo de cada pocillo fue medido durante todo el experimento dos veces al día, antes del primer cambio de medio y luego del último (Ccahuana-Vásquez and Cury, 2010) mediante un microelectrodo (HI 1083B, Hanna instruments, Rumania) acoplado a un pH metro digital portátil (HI 9126-02, Hanna Instruments, Rumania).

Análisis del biofilm

Concluida la fase experimental de cuatro días, los bloques de dentina fueron lavados tres veces con NaCl 0,9%. Luego cada bloque fue transferido a tubos de microcentrífuga con 1 mL de NaCl 0,9% y sonicados por 30s a 7W (Maxi Mix II tipo 37600 Mixer, Thermolyne, Iowa, USA) para separar los biofilms de los bloques, los cuales fueron almacenados para los demás análisis. La suspensión con la totalidad del biofilm fue dividida para evaluar biomasa y microorganismos viables (Ccahuana-Vásquez and Cury, 2010). Los bloques se conservaron para determinar la dureza transversa.

Biomasa

Para determinar la biomasa se utilizó el peso seco del biofilm (Koo et al., 2003). 150 μ L de la suspensión del biofilm fue transferida a un tubo de microcentrífuga pre-pesado, se adicionaron 450 μ L de etanol al 100%, e incubados a -20°C por 5 minutos, luego se centrifugaron por 15 minutos (5000 g, 15 min a 4°C) (Refrigerated Centrifuge, Thermo scientific, Heraeus Megafuge 16R, Massachusetts, USA) y el sobrenadante fue eliminado. Para la obtención del peso seco, el biofilm fue desecado mediante la evaporación de todos los componentes líquidos en una estufa a 37°C por 24 horas (Multigas Incubator, Panasonic, MCO-19M, Osaka, Japón). Para obtener la biomasa, al peso final se le restó el peso inicial de cada tubo y el resultado fue expresado en miligramos.

Microorganismos viables

Una alícuota 100 μ L de la suspensión obtenida de cada bloque fue diluida seriadamente en NaCl 0,9%. Se aplicaron 2 gotas de 10 μ L de cada dilución en medios de cultivo agar BHI en duplicado. (Ccahuana-Vásquez and Cury, 2010). Las placas se incubaron durante 24 horas a 37°C en 10% de CO₂ (Multigas Incubator, Panasonic, MCO-19M, Osaka, Japón). Las unidades formadoras de colonias (UFC) fueron contadas y los resultados expresados como UFC/mg de peso seco del biofilm (Aires et al., 2008). El conteo se realizó bajo lupa (4x), a partir de la primera dilución con a lo menos 20 colonias separadas entre sí.

Desmineralización de los bloques

La microdureza ha sido usada como una metodología de confianza para evaluar la desmineralización (Zero, 1995) y ha sido validada para la caries de esmalte (Cury et al., 2000). Luego de la fase experimental los bloques de dentina fueron seccionados transversalmente. Una de las mitades del bloque fue utilizada para determinar la microdureza transversa (Fejerskov O, 2004). La que fue determinada con 3 indentaciones separadas por 150 μm , cada 25 μm hasta los 300 μm en profundidad. Se evaluó la pérdida de dureza con los valores promedios obtenidos a las diferentes profundidades. Se utilizó un microindentador Knoop con una carga de 10 gr por 5 segundos.

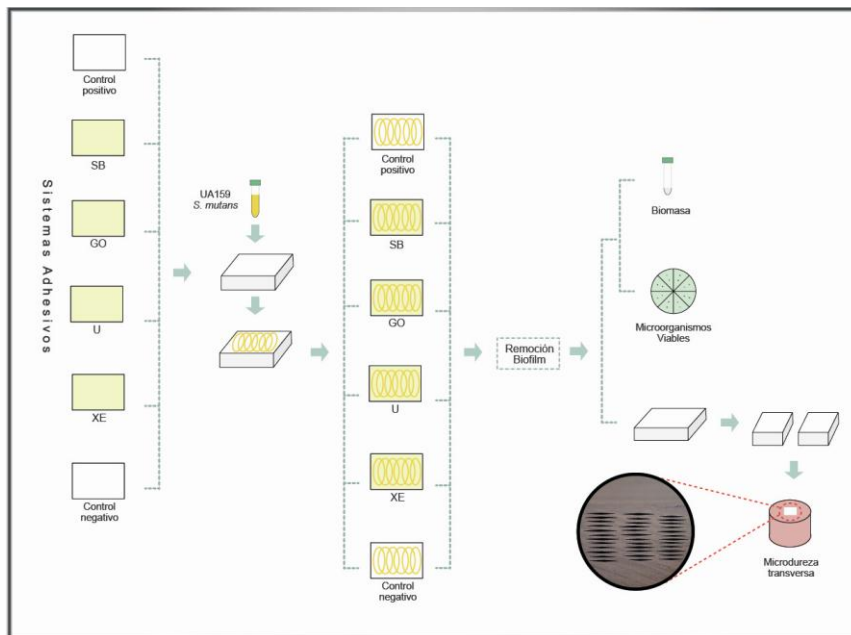


Figura 1. Esquema diseño experimental

Análisis estadístico

Las variables dependientes de este estudio fueron el pH, el %PDS, biomasa, y microorganismos viables.

Todos los datos se analizaron mediante el software estadístico SPSS 15.0 para Windows (IBM Corporation, New York, USA). Las variables fueron sometidas a análisis de comparación múltiple de ANOVA de un factor con un post-hoc de Tukey y Bonferroni. Las diferencias fueron consideradas significativas si el valor $p < 0,05$.

8.5 Resultados

Los resultados del modelo fueron comprobados por medio de la exposición de bloques de dentina a biofilms de *S. mutans* tras 2 fases experimentales, cada una en triplicado. Al medir el pH del medio de cultivo a través del transcurso del experimento como indicador de la acidogenicidad del biofilm de *S. mutans*, se comprobó un descenso significativo del pH desde las 56 horas en los medios de los especímenes tratados con los adhesivos SB, XE, Go y U ($p < 0,0001$) (Fig. 1). No se detectaron diferencias entre ningunos de los tratamientos con adhesivos. Esta tendencia se mantuvo en el tiempo, siendo tan acidogénicos como los inducidos por sacarosa lo que se observa en la Figura 1.

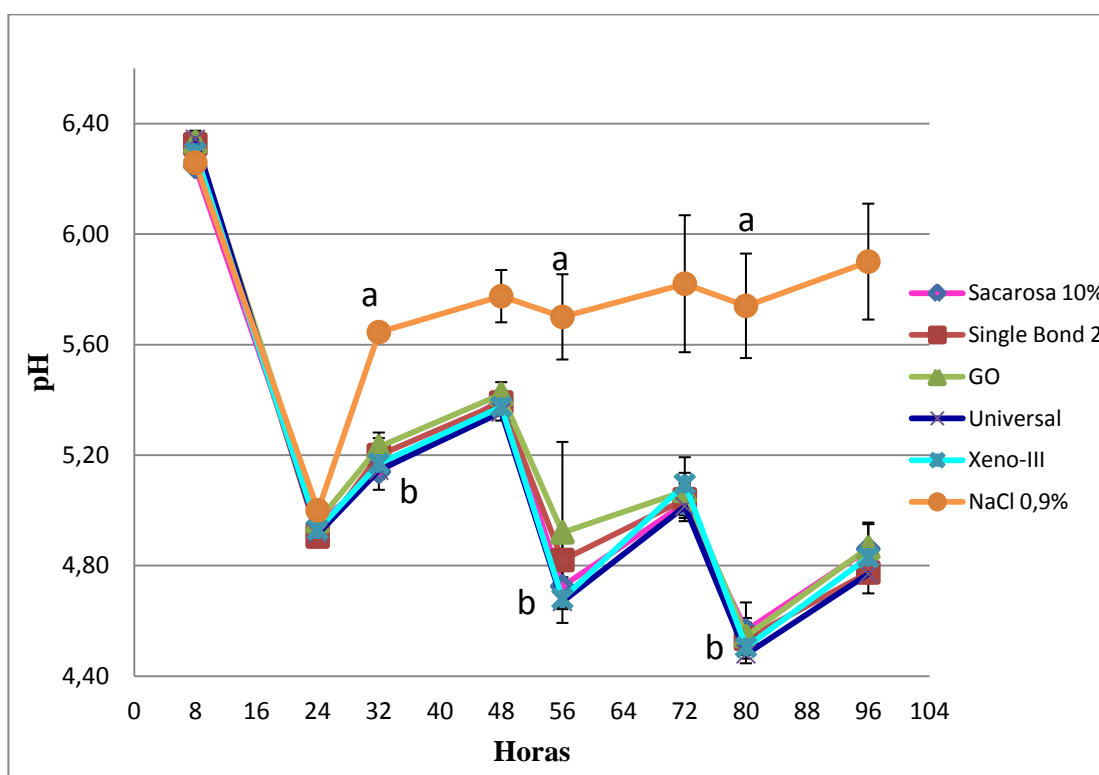


Figura 1. Acidogenicidad de los biofilms de *S. mutans* expuestos a los sistemas adhesivos. Los símbolos corresponden al pH promedio inducido por cada tratamiento ($n = 6$ triplicado de dos fases experimentales) en biofilms formados sobre dentina. Las

barras de error muestran la desviación estándar. Las letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Para caracterizar la profundidad de las lesiones de caries formada bajo la capa de adhesivo, se midió la microdureza transversa de la dentina cada 25 μm desde la superficie hasta los 300 μm de profundidad (Fig. 2). Todos los bloques pertenecientes a los grupos experimentales tratados con los diferentes sistemas adhesivos mostraron mayor dureza y por ende menor desmineralización que los bloques pertenecientes al control positivo (Sacarosa) que no fueron cubiertos con adhesivos y que fueron expuestos a sacarosa. La microdureza de los bloques de dentina con SB mostró menores valores en relación al resto de los grupos en estudio hasta una profundidad de 175 μm . Los adhesivos autograbantes mostraron un comportamiento similar al control negativo (NaCl) a una profundidad de 100 μm . Posterior a esa profundidad a los 150 μm , la microdureza del control negativo fue mayor.

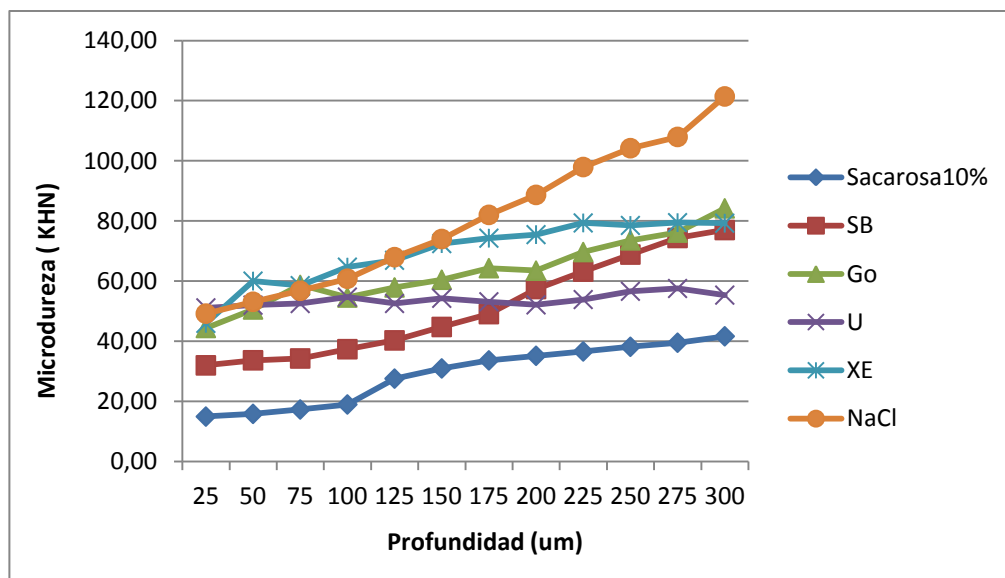


Figura 2. Microdureza transversa en dentina tratada con diferentes sistemas adhesivos. Las líneas representan el promedio de microdureza a diferentes profundidades del bloque graficado hasta los 300 μm ($n=6$, triplicado de dos fases experimentales).

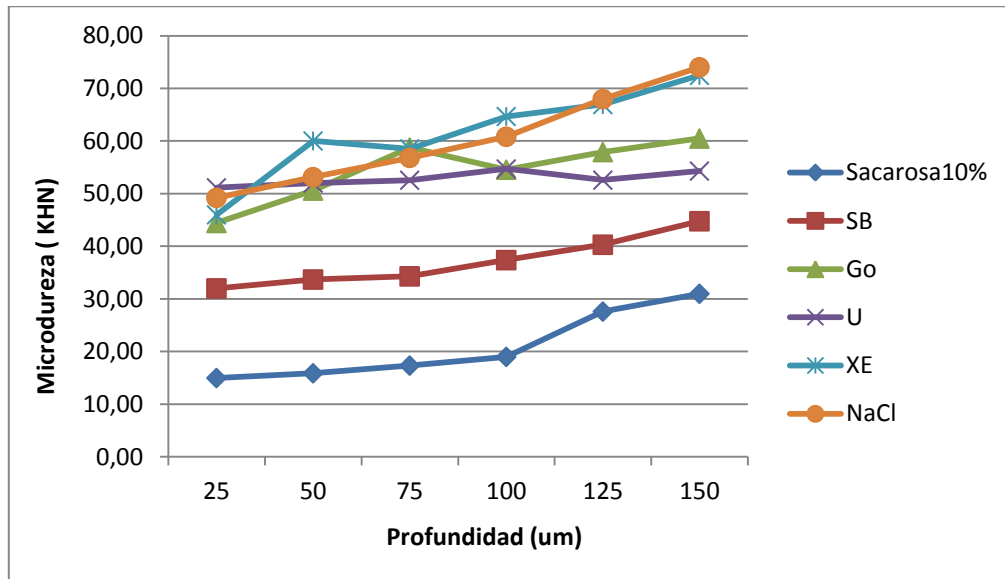


Figura 2b. Microdureza transversa en dentina tratada con diferentes sistemas adhesivos y a una profundidad de 150 μm . Las líneas representan el promedio de microdureza a diferentes profundidades del bloque (n=6, triplicado de dos fases experimentales).

Los biofilms expuestos a los sistemas adhesivos SB y Go mostraron una mayor biomasa que el control negativo, con valores similares al control positivo sacarosa ($p < 0,05$) (Fig. 3). Sin embargo, no fue posible detectar diferencias significativas entre los distintos adhesivos utilizados.

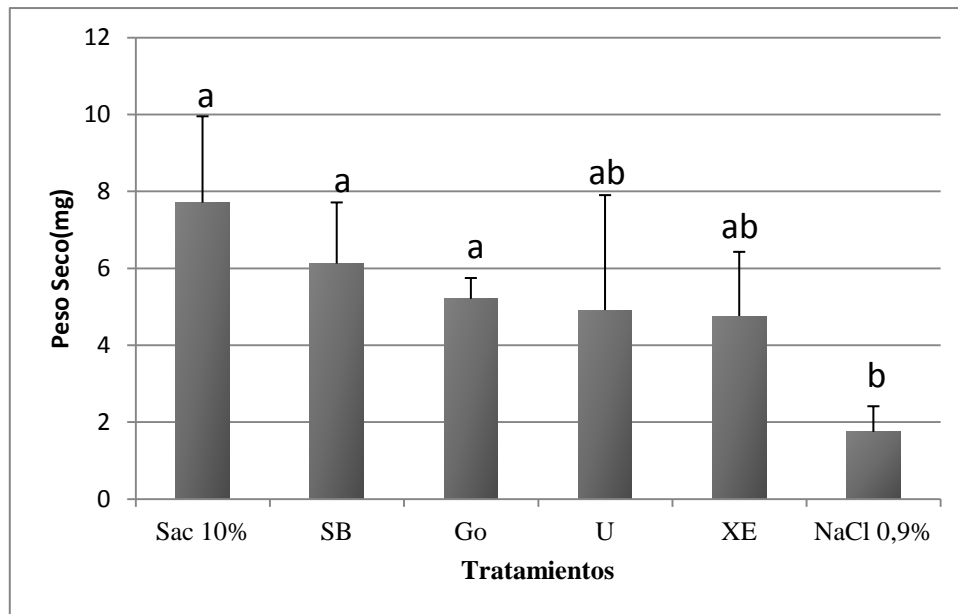


Figura 3: Biomasa inducida por los sistemas adhesivos. Las barras representan el promedio de biomasa obtenido por medio del peso seco del biofilm de cada tratamiento ($n = 6$, triplicado de dos fases experimentales). Las barras de error indican desviación estándar. Las letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

El recuento de microorganismos viables de SB (Fig. 4) mostró un comportamiento similar al observado para sacarosa. Además SB mostró un mayor recuento de bacterias comparado con los otros tratamientos ($p < 0,0001$). El número de células no difirió significativamente entre el resto de los adhesivos y el control negativo.

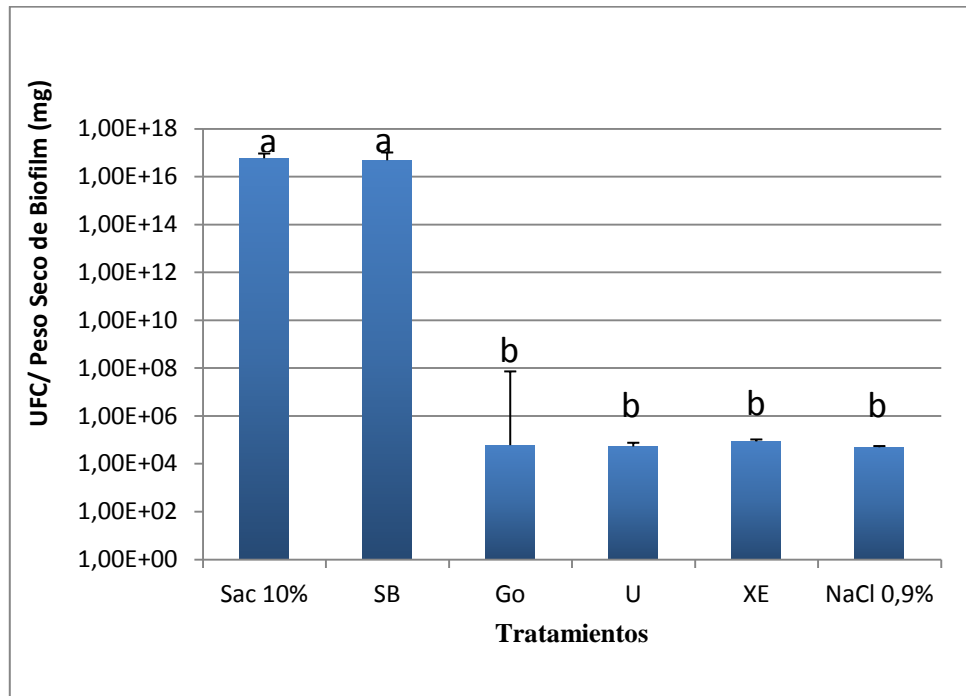


Figura 4. Microorganismos viables obtenidos de los biofilms de *S. mutans* formados en dentina. La cantidad de bacterias producidas por los biofilms expuestos a los sistemas adhesivos fue contada y expresada en UFC/peso seco de biofilm (mg). Las barras representan el promedio de cada tratamiento (n=3, triplicado de una fase experimental). Las barras de error indican desviación estándar. Las letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

8.6 Discusión

Los sistemas adhesivos y las resinas compuestas presentan múltiples indicaciones en la odontología moderna y los estudios clínicos relacionados muestran un buen desempeño con bajas tasa de fracasos anuales (Gaengler et al., 2001; Da Rosa et al., 2006). Sin embargo, otros estudios sugieren que las restauraciones adhesivas tienen menor longevidad que las restauraciones de amalgama (Van Nieuwenhuysen et al., 2003; Soncini et al., 2007). Asociado a la liberación de iones desde la amalgama capaces de matar las bacterias adheridas a la restauración (Netuschil et al., 1996). En cambio los monómeros sin reaccionar del material polimérico pueden promover el crecimiento bacteriano. Siendo la caries secundaria la principal causa asociada al fracaso de las resinas y sistemas adhesivos (Rasines et al., 2014). De allí entonces la importancia de profundizar en el comportamiento de los sistemas adhesivos sometidos a la acción de un biofilm cariogénico. Los ácidos producidos por el biofilm, pueden conducir a caries secundaria en los márgenes de las restauraciones adhesivas (Rolland et al., 2006). En el presente estudio, los biofilms de *S. mutans* sometidos a sacarosa y al sistema adhesivo con grabado previo SB resultaron ser más cariogénicos que los biofilms sometidos a Go, U y XE. Las exposiciones a sacarosa en los bloques tratados con SB resultaron en mayor desmineralización de la dentina, biomasa y bacterias. Es interesante hacer notar que el pH (Fig. 1) de los medios de cultivo de todos los sistemas adhesivos resultó ser acidogénico presentando un comportamiento similar al control positivo (sacarosa 10%), lo que indica tanto que el modelo de caries empleado es confiable, como que los adhesivos del estudio no afectan de manera significativa la formación y actividad del biofilm de *S. mutans*. Todos los sistemas adhesivos tuvieron un comportamiento similar entre sí en la producción de biomasa (Fig. 3), indicativo de que no interfieren con la actividad proliferativa y metabólica del biofilm. Asimismo, esta proliferación se vio reflejada en el recuento de microorganismos viables, donde el biofilm no se altera en términos de su biomasa, pero los adhesivos de autograbado parecen inhibir la proliferación bacteriana a juzgar por los datos obtenidos. (Fig. 4). Esto indica que SB generó un medio propicio para el aumento de microorganismos en el biofilm. Algo importante a

considerar, pues esta descrito que *S. mutans* tiene actividad esterasa en niveles que pueden degradar el material resina compuesta y sistemas adhesivos con grabado previo y adhesivos de autograbado (Bourbia et al., 2013). En relación a la microdureza, el sistema adhesivo SB mostró mayor desmineralización que los adhesivos de autograbado (Fig. 2), lo que se explica por la mayor presencia de microorganismos, con la consecuente mayor producción de ácidos. Asociado a esto se debe considerar la calidad de la capa híbrida, en cuanto a lo hermética o no que esta sea para impedir la difusión de ácidos al interior. Ya que, según los resultados del estudio a igual actividad del biofilm en la superficie hay diferencias en el interior del tejido que puede ser debido a la calidad del sellado ofrecido por el sistema adhesivo SB. La presencia de zonas desmineralizadas no impregnadas por el adhesivo ha sido reportada para los sistemas adhesivos con grabado previo (Pashley et al., 1992; Cadenaro et al., 2009). A consecuencia de esto se genera una zona de fibras colágenas sin soporte de hidroxapatita, no hibridizada (Pashley et al., 1993; Pashley et al., 2011). Las zonas grabadas no infiltradas pueden permitir el paso de las bacterias al interior de la dentina causando la mayor desmineralización observada. La hibridación adecuada es considerada un factor clave en la obtención de uniones fuertes y duraderas que impidan el paso de bacterias y fluidos con la consecuente degradación de la unión a dentina (Nakabayashi et al., 1998; Borges et al., 2014). El patrón de grabado profundo realizado con ácido ortofosfórico al 37%, induce la desmineralización de la dentina. El pH crítico de la dentina es de 6,5 aproximadamente, por lo que se ve más fácilmente afectado por la acidez de los sistemas adhesivos cuyos pHs son menores a 2,5 y en el caso del ácido ortofosfórico de 0,5. La calidad de la hibridación sería fundamental en este caso, donde la difusión insuficiente del adhesivo deja dentina desmineralizada y colágeno sin protección. Clínicamente, esto se puede traducir en la presencia de una zona porosa en la base de la capa híbrida dando inicio al proceso de nanofiltración (Pashley et al., 2011). Asimismo, esta condición puede llevar a sensibilidad posoperatoria y a la desintegración por hidrólisis de la resina inestable dentro de la capa híbrida (Wang et al., 2003). Consecuencia de ello las fibrillas de colágeno quedan sin protección y vulnerables a la degradación por las metaloproteinasas (MMPs) endógenas (Zhang et

al., 2009). En la actualidad estudios recientes muestran que las (MMPs) de saliva y las que están normalmente unidas a las fibrillas de colágeno en dentina pueden convertirse catalíticamente activas bajo condiciones ácidas (Zhang et al., 2009; Tezvergil- Mutluay et al., 2011). Como resultado de esta activación se llega a la degradación de la capa híbrida (Verma et al., 2007). Lo que se traduce en fracaso de la adhesión y menor longevidad de las restauraciones en base a resinas compuestas.

Es importante mencionar que los resultados del estudio se obtuvieron mediante un experimento *in vitro*, donde se simularon las condiciones orales pero, que existen muchos otros factores importantes que no estuvieron presentes, como la saliva, que es un factor protector de caries relevante o la presencia de otras bacterias. Sin embargo, ver el efecto que producen los sistemas adhesivos en el biofilm sin la presencia de otras variables que modifiquen la respuesta de *S. mutans*, permite distinguir el efecto directo que puede tener el adhesivo sobre un biofilm cariogénico. En ese contexto, los adhesivos autograbantes parecen tener un efecto inhibitorio de la cariogenicidad, lo que no ocurre con el adhesivo de grabado total empleado que mantiene los niveles alcanzados por el control positivo de caries sin adhesivo. A la luz de estos resultados, se sugiere que las formulaciones de estos últimos sean revisadas.

Así, el enfoque más reciente se refiere a controlar eficazmente y reducir el crecimiento de bacterias cariogénicas en relación a las resinas compuestas, sistemas adhesivos e interface marginal de estas restauraciones. La incorporación de agentes antibacterianos en los sistemas adhesivos sería beneficioso para impedir la invasión y crecimiento bacteriano en la interface diente – restauración (Zhang et al., 2013a). Pese a que existen varios estudios con resinas compuestas o adhesivos que incorporan agentes antibacterianos en su composición (Zhang et al., 2012; Zhang et al., 2013; Melo et al., 2013; Wang et al., 2014), la evidencia clínica disponible en relación a su efectividad para inhibir la caries secundaria es limitada, así como tampoco se conoce si presentan interferencias con los procesos adhesivos.

8.7 Conclusión

Los resultados del estudio sugieren que el adhesivo con grabado previo no es capaz de inhibir el ataque ácido inducido por la sacarosa, generando cambios en el biofilm, y en los bloques de dentina que fueron semejantes a los producidos por sacarosa. Los adhesivos autograbantes, en cambio no mostraron diferencias al compararlos con el control negativo y aparentemente poseerían un efecto inhibitor de la cariogenicidad, al menos en este modelo de caries secundaria.

El modelo desarrollado en este estudio puede resultar de interés para futuras aplicaciones que impliquen el efecto de biofilms orales sobre la dentina tratada con adhesivos, en una aproximación preliminar a un modelo de caries radicular en dentina.

8.8 Bibliografía

- 1.-Aires CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, Klein Mi, Koo H, Duarte S, et al. (2008). Effect of starch and sucrose on dental biofilm formation and on root dentine demineralization. *Caries res*; 42:380-386.
- 2.-Beyth N, Domb AJ, Weiss EI. (2007). An in vitro quantitative antibacterial analysis of amalgam and composite resins. *J Dent.*; 35:201–206. [PubMed: 16996674]
- 3.-Beyth N, Bahir R, Matalon S, Domb AJ, Weiss EI. (2008). *Streptococcus mutans* biofilm changes surface-topography of resin composites. *Dent Mater*; 24(6):732–6.
- 4.-Borges MA, Matos IC, Mendes LC, Gomes AS, Miranda MS (2011). Degradation of polymeric restorative materials subjected to a high caries challenge. *Dent Mater* 27:244-252.
- 5.- Borges F, Kochhann E, Wiengärtner F, Boscato N, Van de Sande F, Moraes R, Cenci M. (2014). Effect of cariogenic challenge on the stability of dentin bonds. *J Appl Oral Sci.*; 22(1):68-72.
- 6.-Bourbia M, Ma D, Cvitkovitch DG, Santerre JP, Finer Y. (2013). Cariogenic bacteria degrade dental resin composites and adhesives. *J Dent Res.*; 92 (11): 989-994.
- 7.- Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano DE. (2008). Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater*; 24:90–101.
- 8.- Cadenaro M, Breschi L, Rueggeberg FA, Suchko M, Grodin E, Agee KA, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH. (2009). Effects of residual ethanol on the rate and degree of conversion of five experimental resins. *Dent Mater*; 25:621–8.
- 9.-Ccahuana-Vasquez, R. A., & Cury, J. A. (2010). S. mutans biofilm model to evaluate antimicrobial substances and enamel demineralization *Braz Oral Res.*; 24: 135-141.
- 10.-Chaussain-Miller C, Fioretti G, Goldberg M, Menashi S. (2006). The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res.* 85:22–32.
- 11.-Cheng L, Weir MD, Zhang K, Arola DD, Zhou X, Xu HH (2013a). Dental primer and adhesive containing a new antibacterial quaternary ammonium monomer dimethylaminododecyl methacrylate. *J Dent* 41(4):345-355.

- 12.- Contardo MS, Muñoz C, Giacaman RA. (2015). Sealing dentin caries with resin-modified glass ionomer decreases lesion progression and bacterial survival in an experimental model. *J Adhes Dent*. Apr 17. doi: 10.3290/j.jad.a34056. [Epub ahead of print].
- 13.- Cury JA, Rebelo MA, Del Bel Cury AA, Derbyshire MT, Tabchoury CP (2000). Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. *Caries Res* 34(6):491-497.
- 14.- Da Rosa Rodolpho PA, Cenci MS, Donassollo TA, Loguércio AD, Demarco FF. (2006). A clinical evaluation of posterior composite restorations: 17-year findings. *J Dent*; 34:427–35.
- 15.-Deligeorgi V, Mjör IA, Wilson NH. (2001). An overview of reasons for the placement and replacement of restorations. *Prim Dent Care*; 8(1):5–11.
- 16.-Demarco FF, Corrêa MB, Cenci MS, Moraes RR, Opdam NJ. (2012). Longevity of posterior composite restorations: not only a matter of materials. *Dent Mater*. 28:87-101.
- 17.- De Munck J, Vargas M, Iracki J, Van Landuyt K, Poitevin A, Lambrechts P, et al. (2005). One-day bonding effectiveness of new self-etch adhesives to bur-cut enamel and dentin. *Oper Dent*; 30:39–49.
- 18.- Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J, (1983). Comparison of artificial caries- like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res*. 17: 385-391.
- 19.- Fejerskov O, (2004). Changing paradigms in concepts on dental caries: Consequences for oral health care. *Caries res*; 38 (3):182-191.
- 20.- Freund M, Munksgaard EC. (1990). Enzymatic degradation of BisGMA/TEGDMA-polymers causing decreased microhardness and greater wear in vitro. *Scand J Dent Res*; 98(4):351–5.
- 21.- Fruits TJ, Knapp JA, Khajotia SS. (2006). Microleakage in the proximal walls of direct and indirect posterior resin slot restorations. *Oper Dent*; 31(6):719–27.
- 22.- Gaengler P, Hoyer I, Montag R. (2001). Clinical evaluation of posterior composite restorations: the 10-year report. *J Adhes Dent*; 3:185–94.
- 23.- He J, Soderling E, Österblad M, Vallittu PK, Lassila LV. (2011). Synthesis of methacrylate monomers with antibacterial effects against *S. mutans*. *Molecules*; 16(11):9755–63.
- 24.- Kawai K, Tsuchitani Y. (2000). Effects of resin composite components on glucosyltransferase of cariogenic bacterium. *J Biomed Mater Res*; 51(1):123–7.

- 25.- Khalichi P, Singh J, Cvitkovitch DG, Santerre JP. (2009). The influence of triethylene glycol composite resins on the regulation of *Streptococcus mutans* derived from dental gene expression. *Biomaterials*; 30(4):452–9.
- 26.- Kleverlaan CJ, Feilzer AJ. (2005). Polymerization shrinkage and contraction stress of dental resin composites. *Dent Mater*; 21(12):1150–7.
- 27.- Koshiro K, Sidhu SK, Inoue S, Ikeda T, Sano H. (2006). New concept of resin-dentin interfacial adhesion: the nanointeraction zone. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 77:401–8.
- 28.- Koo, H., Hayacibara, M. F., Schobel, B. D., Cury, J. A., Rosalen, P. L., Park, Y. K., Bowen, W. H. (2003). Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm accumulation and polysaccharide production by apigenin and tt-farnesol. *J Antimicrob Chemother.*; 52(5) 782-789.
- 29.- Lee HL, Swartz ML, Smith FF. (1969). Physical properties of four thermosetting dental restorative resins. *J Dent Res*; 48(4):526–35.
- 30.- Liu Y, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, *et al.* (2011). Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res* 90:953-968.
- 31.- Loesche WJ. (1986). Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 50(4):353-380.
- 32.- Lutz F, Krejci I, Barbakow F. (1991). Quality and durability of marginal adaptation in bonded composition restorations. *Dent Mater*; 7(2):107–13.
- 33.- Melo M, Cheng L, Zhang K, Weir M, Rodriguez L, Xu H. (2013) Novel dental adhesives containing nanoparticles of silver and amorphous calcium phosphate. *Dental Materials*; 29: 199-210
- 34.- Murray PE., Windsor LJ., Smyth TW., Hafez AA., Cox CF. (2002). Analysis of pulpal reactions to restorative procedures, materials, pulp capping, and future therapies. *Crit Rev Oral Biol Med* 13:509-520.
- 35.- Nakabayashi N, Pashley D. (1998). Hybridization of dental hard tissues. Quintessence, Tokyo, Japan.
- 36.- Netuschil L, Vohrer KG, Riethe P, Kasiuff Z, Brex M. (1996). Antibacterial effects of amalgam on mutans streptococci in an in vitro biofilm test procedure. *Acta Stomatol Belg*. 93(2):73–8.
- 37.- Opdam NJ, Bronkhorst EM, Loomans BA, Huysmans MC. (2012). Longevity of repaired restorations: a practice based study. *J Dent.*; 40:829-35.

- 38.- Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. (2004). Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*; 83:216–21.
- 39.- Pashley D H., Franklin R. Tay, Lorenzo Breschi, Leo Tjäderhane, Ricardo M. Carvalho, Marcela Carrilho, Arzu Tezvergil-Mutluay. (2011). State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dental materials* 27; 1-6.
- 40.- Pedrini D, Gaetti-Jardim Júnior E, de Vasconcelos AC. (2001). Retention of oral microorganisms on conventional and resin-modified glass-ionomer cements. *Pesqui Odontol Bras*; 15(3):196–200.
- 41.- Rasines MG, Veitz-Keenan A, Sahrman P, Schnidlin PR, Davis D, Iheozor Z. (2014). Direct composite resin fillings versus amalgam fillings for permanent or adult posterior teeth (Review). *The Cochrane Library*.
- 42.- Rolland SL, McCabe JF, Robinson C, Walls AW. (2006). In vitro biofilm formation on the surface of resin-based dentine adhesives. *Eur J Oral Sci*; 114:243–9.
- 43.- Roumanas ED. (2010). The frequency of replacement of dental restorations may vary based on a number of variables, including type of material, size of the restoration, and caries risk of the patient. *J Evid Based Dent Pract.*; 10:23-4.
- 44.- Sakaguchi RL. (2005). Review of the current status and challenges for dental posterior restorative composites: clinical, chemistry, and physical behavior considerations. *Dental Materials*; 21:3–6.
- 45.- Samuel SP, Li S, Mukherjee I, Guo Y, Patel AC, Baran GR (2009). Mechanical properties of experimental dental composites containing a combination of mesoporous and nonporous spherical silica as fillers. *Dental Materials*; 25:296–301.
- 46.- Santerre JP, Shajii L, Leung BW. (2001). Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. *Crit Rev Oral Biol Med*; 12(2):136–51.
- 47.- Sarrett DC. (2005). Clinical challenges and the relevance of materials testing for posterior composite restorations. *Dent Mater*; 21:9–20.
- 48.- Shimada Y, Ichinose S, Sadr A, Burrow MF, Tagami J. (2009). Localization of matrix metalloproteinases (MMPs-2, 8, 9 and 20) in normal and carious dentine. *Aust Dent J*; 54(4):347–54.
- 49.- Shirai K, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Lambrechts P, Suzuki K, et al. (2005). Effect of cavity configuration and aging on the bonding effectiveness of six adhesives to dentin. *Dent Mater*; 21:110–24.

- 50.- Steinberg D, Eyal S. (2002). Early formation of *Streptococcus sobrinus* biofilm on various dental restorative materials. J Dent; 30:47–51.
- 51.- Stewardson D., Thornley P., Bigg T., Bromage C., Browne A., Cottam D (2010). The survival of class V restorations in general dental practice: Part 1, baseline data. Br Dent J, 208: 1-5.
- 52.- Soncini JA, Maserejian NN, Trachtenberg F, Tavares M, Hayes C. (2007). The longevity of amalgam versus compomer/composite restorations in posterior primary and permanent teeth: findings from the New England Children's Amalgam Trial. J Am Dent Assoc; 138:763–72.
- 53.- Spencer P, Ye Q, Park J, Topp EM, Misra A, Marangos O, et al. (2010). Adhesive/dentin interface: the weak link in the composite restoration. Ann Biomed Eng. 38(6):1989–2003.
- 54.- Svanberg M, Mjör IA, Orstavik D. (1990). Mutans streptococci in plaque from margins of amalgam, composite, and glass-ionomer restorations. J Dent Res; 69:861–4.
- 55.- Tay FR, Carvalho R, Sano H, Pashley DH. (2000). Effect of smear layers on the bonding of a self-etching primer to dentin. J Adhes Dent; 2:99–116.
- 56.- Taylor DF, Bayne SC, Sturdevant JR, Wilder AD. (1989). Comparison of direct and indirect methods for analyzing wear of posterior composite restorations. Dent Mater; 5(3):157–60.
- 57.- Ten Cate JM. (2006). Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. Odontology; 94:1–9.
- 58.- Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Uchiyama T, Imazato S, Mutluay MM. (2011). The inhibitory effects of quaternary ammonium methacrylates on soluble and matrix-bound MMPs. J Dent Res; 90(4):535–40.
- 59.-Thomas, R. Z., Ruben, J. L., ten Bosch, J. J., & Huysmans, M. C. (2007). Effect of ethylene oxide sterilization on enamel and dentin demineralization in vitro J Dent.; 35: 547-551.
- 60.- Van de Sande FH, Opdam NJ, Rodolpho PA, Correa MB, Demarco FF, Cenci MS. (2013). Patient risk factors' influence on survival of posterior composites. J Dent Res.; 92:78S-83S.
- 61.- Van Landuyt KL, De Munck J, Mine A, Cardoso MV, Peumans M, Van Meerbeek B. (2010). Filler debonding & subhybrid-layer failures in self-etch adhesives. J Dent Res; 89:1045–50

- 62.- Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. (2003). Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*; 28:215–35.
- 63.- Van Meerbeek B., Yoshihara K., Yoshida Y. , Mine A. De Munck J., Van Landuyt K.L. (2011) State of the art of self-etch adhesives. *Dental Materials* 27: 17-28
64. - Van Nieuwenhuysen JP, D'Hoore W, Carvalho J, Qvist V. (2003). Long-term evaluation of extensive restorations in permanent teeth. *J Dent*; 31:395–405.
65. - Verma RP, Hansch C. (2007). Matrix metalloproteinases (MMPs): chemical–biological functions and (Q)SARs. *Bioorg Med Chem*; 15(6):2223–68.
66. - Wang Y, Spencer P. (2003). Hybridization efficiency of the adhesive / dentin interface with wet bonding. *J Dent Res*. 82:141-145.
67. - Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. (2014). Dental materials with antibiofilm properties. *Dental Materials*; 30: e1-e16.
68. - Winkler M, Greener EH, Lautenschlager EP. (1991). Non-linear in vitro wear of posterior composites with time. *Dental Materials*; 7(4):258–62.
- 69.-Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Yoshioka M, Snauwaert J, Abe Y, et al. (2001). Adhesion to and decalcification of hydroxyapatite by carboxylic acids. *J Dent Res*;80:1565–9.
70. - Zhang SC, Kern M. (2009). The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *Int J Oral Sci*; 1(4):163–76.
- 71.- Zhang K, Melo M, Cheng L, Weir M, Bai Y, Xu H. (2012). Effect of quaternary ammonium and silver nanoparticle-containing adhesives on dentin bond strength and dental plaque microcosm biofilms. *Dental Materials*, 28: 842-852
- 72.- Zhang K , Lei Cheng , Satoshi Imazato, Joseph M. Antonucci , Nancy J. Lin Sheng Lin-Gibson , Yuxing Bai , Hockin H.K. Xu. (2013). Effects of dual antibacterial agents MDPB and nano-silver in primer on microcosm biofilm, cytotoxicity and dentine bond properties. *Journal of dentistry*; 41: 464-474
- 73.- Zero DT (1995). In situ caries models. *Adv Dent Res*. 9(3):214-230; discussion 231-214.

9. Conclusión

Los sistemas adhesivos autograbantes han solucionado en cierta medida las dificultades de los sistemas adhesivos con grabado previo pero, no han demostrado ser totalmente superiores en sus propiedades físicas y mecánicas. En este estudio, ninguno de los sistemas adhesivos autograbantes utilizados, a pesar, de obtener menores valores de microfiltración que el sistema convencional, fue capaz de evitar la microfiltración de manera total, y en cuanto a la resistencia adhesiva traccional el adhesivo con grabado previo, mostró un mejor comportamiento en relación a los autoacondicionantes del estudio. Las características ultraestructurales de las interfaces dentina- resina observadas al Microscopio Electrónico de Barrido dan cuenta de una mejor caracterización de la capa híbrida y *tags* de resina para los adhesivos con grabado previo. Al analizar los sistemas autoacondicionantes entre sí, se aprecia una tendencia en los de menor pH a mostrar una unión resina-dentina con mejores características ultraestructurales que los sistemas de mayor pH. Siendo, como ya se ha explicitado la caries secundaria uno de los principales factores etiológicos asociados al fracaso y recambio de restauraciones adhesivas resulta interesante, el sugerir, que el sistema adhesivo con grabado previo no es capaz de inhibir el ataque ácido inducido por la sacarosa, generando cambios tanto en el biofilm, como en los bloques de dentina que fueron semejantes a los producidos por sacarosa. En cambio, los adhesivos autograbantes aparentemente poseerían un efecto inhibitor de la cariogenicidad.