

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA RESTAURADORA
ASIGNATURA DE OPERATORIA DENTAL

EVALUACIÓN MORFOLÓGICA DE LA INTERACCIÓN DEL ADHESIVO ADPER PROMPT-L-POP CON LA DENTINA DEL CONDUCTO RADICULAR

Gustavo Mahn Arteaga

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dra. Georgina Toro Urbina

TUTORES ASOCIADOS
Prof. Dr. Alejandro Oyarzún Droguett
Prof. Dr. Tito Alday Sáez

Santiago - Chile
2005

A mi familia,
que me ha acompañado y ayudado en todo momento,
sin los cuales no hubiera podido llegar a estas instancias.

Agradecimientos

A la Dra. Georgina Toro por su constante apoyo, paciencia y real entrega docente y humana desde que la conozco hace 4 años

Al Dr. Alejandro Oyarzún por sus invaluable consejos y ayuda, tanto como persona y como experto en morfología microscópica, que hicieron posible este trabajo

Al Dr. Tito Alday por su ayuda en la redacción y realización de este trabajo

Al Dr. Benjamín Martínez por su ayuda en el análisis estadístico de los resultados de este trabajo

A la Sra. Marcela Ortuondo de 3M Chile por facilitar materiales

Al Sr. Mario Herrera de SDI Chile por facilitar materiales

Al Sr. Juan Méndez por su apoyo, afecto y la ayuda prestada en el procesamiento histológico de las muestras

A la Sra. Fresia Pincheira, por su constante ayuda, afecto y ánimo entregado hacia mi en los años que pasé en la escuela al estar facilitando insumos clínicos

A mis amigos que han permanecido conmigo hasta hoy desde hace 6 años y con los que espero seguiremos un largo camino juntos además como colegas

INDICE

Introducción.....	1
Aspectos teóricos.....	4
Hipótesis.....	21
Objetivo General.....	21
Objetivos específicos.....	21
Material y Método.....	22
Materiales para procedimiento.....	22
Selección de la muestra.....	23
Técnica adhesiva.....	23
Procesamiento histológico.....	24
Análisis morfométrico.....	25
Evaluación citoquímica por captura de iones calcio.....	26
Resultados.....	28
Análisis cuantitativo.....	28
Análisis cualitativo.....	36
Evaluación cualitativa de reacción citoquímica por captura de iones calcio.....	46
Discusión.....	50
Conclusiones.....	63
Sugerencias.....	64
Resumen.....	65
Referencias.....	67

Introducción

En la actualidad, es común considerar la adhesión en muchas acciones clínicas y de laboratorio, muchas veces sin valorar en su totalidad las bondades que esta presenta tanto para el clínico, el laboratorista y el mismo paciente. En menos de medio siglo se han logrado avances antes insospechados en esta materia que han revolucionado los conceptos clásicos y la labor de la Odontología Restauradora. ⁽¹⁾

Sin embargo, a pesar del esfuerzo de investigadores y todos los adelantos tecnológicos, aún no se ha logrado la técnica adhesiva ideal que sea perdurable en el tiempo, de fácil ejecución y aplicable en forma general, ya que hay muchos factores involucrados en el éxito de ésta, entre los cuales se encuentran, el o los mismos materiales, el sustrato dental y el factor humano del profesional que debe ejecutarla.

A través de los años se ha visto que el tipo de adhesión que se puede lograr depende de los diferentes tipos de tejido dentarios sobre los cuales se efectúen los procedimientos. La adhesión al esmalte dental ha llegado a ser una realidad confiable. Un acondicionamiento con ácido fosfórico puede cambiar la superficie del esmalte, haciéndolo más receptivo a la adhesión. Así, proyecciones de resina pueden formarse en las microporosidades del esmalte grabado, creando una unión resistente y duradera. ⁽²⁾

La adhesión a dentina ha sido mucho más compleja de lograr. ⁽³⁾ Las dificultades radican en que la dentina presenta una estructura histológica y composición química diferentes. La dentina está compuesta por un 65 a 70% de hidroxiapatita de calcio, 20 a 25% de materiales orgánicos y cerca de 10% de agua contenida en ellos. La mayor parte del componente orgánico es colágeno tipo I acompañado de proteoglicanos y glicoproteínas. ⁽⁴⁾ La morfología dentinaria es en forma tubular. Estos túbulos son de mayor diámetro cerca de la pulpa y en el lumen de estos se encuentra la prolongación odontoblástica. La dentina, histológicamente, también puede clasificarse como dentina primaria, secundaria y terciaria. Las dentinas primarias y secundarias pueden modificar fisiológicamente su composición frente a estímulos tales como abrasión, atrición o la edad. Este fenómeno es llamado también “esclerosis dentinaria”. Ante la presencia de caries la dentina puede transformarse en otra entidad llamada “dentina reparativa”. ^(5,6) Estos factores hacen que la aplicación de técnicas adhesivas sea diferente entre esmalte y dentina.

Los sistemas adhesivos han tenido una rápida evolución en los últimos 20 años. En nuestros días existe un gran número de productos con diferentes presentaciones comerciales. Esto hace confusa la correcta elección de los materiales, ya que en ocasiones está más en juego la simplicidad y el diseño del material que el fundamento químico-biológico de su aplicación en los

tejidos dentales. No existe una técnica adhesiva universal, con lo cual es imperativo conocer las limitaciones y ventajas del material adhesivo.⁽⁶⁾ Adicionalmente, una técnica de aplicación cuidadosa por parte del operador es imprescindible para tener éxito en ella. Un hecho que la industria de los biomateriales odontológicos ha potenciado en la adhesión en los últimos años es la simplificación. Si en un principio había que ocupar hasta 5 distintos componentes para lograr adhesión a estructuras dentales, hoy es necesario sólo uno. Estos son los llamados "adhesivos dentales autograbantes". En años recientes, estos adhesivos autograbantes en esmalte y dentina coronaria ha sido probados con menor éxito que adhesivos de generaciones anteriores. Sin embargo, el uso de estos en dentina de otra ubicación anatómica como lo es la dentina radicular, no posee un apoyo extenso en la literatura. Al ser la odontología una labor fundamentada en la ciencia, previo a la utilización de estos materiales, es necesario comprobar si en realidad el desempeño de estas sustancias es o no superior a sus predecesores bajo condiciones *in vitro*. Este estudio pretende contribuir a la comprensión de cómo se comporta un tipo de estos adhesivos en la dentina radicular, para así poder tratar de inferir la manera como se comportaría al ser aplicado en clínica y hallar diferencias o similitudes con otros sistemas adhesivos.

Aspectos teóricos

En rehabilitación oral es común el uso de pernos o postes intraconducto y la reconstrucción de muñones dentarios en dientes endodónticamente tratados que han sufrido gran pérdida de tejido dentario coronario. En estos casos la cementación de un perno artificial dentro del conducto radicular es usado para proveer retención a la restauración final. ⁽⁷⁾ Sin embargo se ha visto que la preparación de la raíz dentaria para la inserción de un perno puede generar pérdida adicional de tejido dentario, lo cual debilita aún más la estructura, aumentando el riesgo de fractura radicular a largo plazo. ^(8,9) Además, otras fallas en este tipo de restauraciones son la fractura del poste, del muñón o pérdida de retención del poste. Postes preformados de forma cilíndrica han mostrado tener mayor éxito clínico en estudios retrospectivos que postes cónicos colados individuales, ^(10,11) entre otras razones por sus favorables propiedades físicas. ⁽¹²⁾ En el mercado hay numerosos postes prefabricados hechos de diversos materiales, entre ellos acero inoxidable, carbono, cerámicos, fibra de vidrio, etc. En consecuencia, ya de un tiempo a esta parte, se han abierto las posibilidades de aplicar los conceptos y materiales que son capaces de adherirse a los tejidos duros dentales en el tratamiento rehabilitador de dientes sometidos a endodoncia previa.

El uso de adhesivos dentales en este campo permite restaurar dientes

con tratamiento endodóntico reemplazando solamente la estructura radicular que se ha perdido mediante el uso de postes prefabricados en conjunto con técnicas adhesivas, hecho que aumenta la retención y mejora el sellado de estos. Por esta razón los sistemas adhesivos dentinarios y cementos de resina han sido sugeridos para la cementación de postes prefabricados. ^(13,14) Un estudio demostró que postes cementados con sistemas de adhesión a esmalte y dentina han tenido menor filtración que cuando se han cementado con otros agentes como ionómeros de vidrio o a base de zinc/fosfato. ⁽¹⁵⁾

Seleccionar el adhesivo y cemento apropiado para colocar un poste endodóntico en el conducto radicular es un desafío. Hay muchos tipos de sistemas de adhesión que se combinan con diferentes cementos a base de resina. Lamentablemente la información bibliográfica acerca de la adhesión a tejidos intraradiculares no es tan extensa como la que existe de adhesión a dentina coronaria. Sin embargo, algunos conceptos pueden ser extrapolables en un inicio para hacerse una idea general del tema.

Las causas principales de pérdida de tejido dentario son la caries dental y los traumatismos. Ante estas situaciones, para devolver forma y función a la pieza dentaria es necesario reemplazar el tejido perdido y actualmente uno de los materiales utilizados es la resina compuesta en sus múltiples presentaciones. Como esta por sí sola no es capaz de adherirse al diente, es

necesario ocupar una variante de esta, que contiene otros compuestos y es de menor viscosidad. Estos son los llamados adhesivos dentales.⁽³⁾

El concepto de adhesión puede ser definido de varias formas. En forma general se define como cualquier mecanismo que permita que dos partes se mantengan en contacto o bien como toda fuerza que se opone a la separación de dos cuerpos, manteniéndolos unidos cuando están en íntimo contacto.^(16,17)

Sin embargo en el campo odontológico tenemos que diferenciar entre los tipos de adhesión:

-Adhesión química: es la reacción producida al entrar en contacto dos superficies, generándose así uniones específicas. La unión química primaria es a nivel atómico y la secundaria es a nivel molecular. Este tipo de unión se produce en superficies planas y químicamente dispares.^(1,16,17)

-Adhesión mecánica: es la unión entre dos superficies dispares por medio de una trabazón entre las partes a unir, las que se mantienen en contacto en base a la penetración de una de ellas o en las irregularidades que presenta la superficie de la otra, es decir, en función de la morfología de ambas. Esta traba puede ser macroscópica como microscópica.^(1,16,17)

La adhesión a esmalte es diferente que a dentina. A pesar de esto, en general, la técnica adhesiva actualmente considera el uso de 3 componentes

básicos. En este caso en particular, nos referiremos tomando como ejemplo la adhesión dentinaria. Los componentes son:

1) Acondicionador dentinario ácido: sustancia que desmineraliza superficialmente la dentina dejando la estructura colágena dentinaria expuesta.⁽¹⁾

2) Primer: compuesto hidrofílico, capaz de penetrar infiltrándose por los espacios microscópicos de la malla colágena. Contiene, entre otras, una molécula bifuncional llamada HEMA (*2-hydroxyethyl methacrylate*) que enlaza compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos.⁽⁶⁾

3) Adhesivo: compuesto hidrofóbico resinoso generalmente a base de Bis-GMA o UDMA que se interdigita en los sitios ocupados por el primer.⁽³⁾ Al polimerizar, generalmente por acción lumínica gracias a la presencia de fotoiniciadores como la canforoquinona,⁽¹⁶⁾ logra la unión micromecánica a la dentina. El hecho que además exista unión química aún se discute.⁽¹⁸⁾

Estos 3 componentes básicos se combinan de diferentes maneras para resultar en una gran variedad de presentaciones de adhesivos dentarios. Teniendo esto en cuenta, pueden clasificarse de muchas maneras. Una de ellas es según la cantidad de pasos clínicos que necesitan para lograr la adhesión. Así tenemos adhesivos de 3 pasos (acondicionador, primer y adhesivo en

botellas separada), de 2 pasos (acondicionador en una botella y primer/adhesivo en otra o acondicionador/primer en una y adhesivo en otra) y de 1 paso, en donde acondicionador, primer y adhesivo se encuentran juntos en un mismo compuesto o botella.

Otra forma de clasificar los adhesivos es según intervengan con el llamado "barro dentinario". Una vez que se instrumenta de alguna forma la dentina, se genera en la superficie el llamado "barro dentinario" o *smear layer*, que es una capa de residuos que queda en la superficie de los tejidos dentarios creada por el corte de un diente. ⁽¹⁹⁾

Esta película varía en grosor, rugosidad, densidad y grado de unión a la estructura dentaria subyacente según la manera de preparación de la superficie y qué elementos abrasivos se hayan ocupado. ⁽²⁰⁻²⁶⁾ La capa de barro dentinario tiene un grosor de aproximadamente 0.5 a 5µm y ocluye los orificios de los túbulos dentinarios. A pesar de que actúa como una "barrera de difusión" que reduce la permeabilidad de la dentina ⁽²⁷⁾, puede considerarse como impedimento a la adhesión por encontrarse entre diente y material adhesivo. Además, bacterias pueden quedar atrapadas en este barro y pueden sobrevivir bajo restauraciones. ⁽²⁸⁾

Esta capa debe ser eliminada, modificada o impregnada por biomateriales dentales para permitir la adhesión. ^(18,29,30) La adhesión que se

logra con materiales resinosos es por la retención micromecánica de la resina que se infiltra en la estructura colágena de la dentina, formándose la llamada “capa híbrida”, que está compuesta por adhesivo (material resinoso de baja viscosidad) y colágeno de la matriz dentinaria desmineralizada, donde su integridad depende de una adecuada polimerización y penetración de este adhesivo.⁽³¹⁾

De esta manera los sistemas adhesivos pueden clasificarse según la manera como tratan el barro dentinario. Así, tenemos que los adhesivos ocupan una de las siguientes técnicas:

- a) *técnica de grabado ácido o “grabado y lavado”*
- b) *técnica de autograbado*

Las técnicas adhesivas con el uso de **grabado ácido** son las más ocupadas en nuestro medio actualmente. Este método ha demostrado altos valores de adhesión a dentina coronaria.^(32,33) Básicamente se trata de aplicar primero un ácido sobre la dentina por 15 a 20 segundos, con lo que se logra eliminar el barro dentinario. Además remueve el contenido mineral de la dentina, hasta una profundidad de aprox. 2 a 7 μm , dejando expuesta la malla colágena dentinaria.⁽³⁾ Luego de lavar este ácido por aproximadamente 30 segundos, los espacios que quedan entre las fibras colágenas (que antes estaban ocupados por la fase mineral) se llenan con agua. Después de esto,

dejando la dentina humedecida, se aplica el primer, el cual penetra infiltrándose por estos espacios entre las fibras colágenas, gracias a que su composición química es hidrofílica. Luego se aplica el adhesivo resinoso de características hidrofóbicas que se ubica donde pudo infiltrarse el primer anteriormente. Esto es gracias al HEMA contenido en él. La aplicación de primer y adhesivo puede ser en dos o un solo paso clínico dependiendo del adhesivo empleado. Una vez que primer y adhesivo han infiltrado la dentina desmineralizada y han penetrado la matriz colágena expuesta, se polimeriza por acción lumínica y se forma la llamada "capa híbrida" ⁽¹⁸⁾. Visto desde esta perspectiva, la dentina puede ser considerada como un *composite* biológico de matriz colágena, el cual está relleno con partículas nanométricas de cristales de apatita. Luego de solubilizar estos cristales y extraer este contenido mineral alrededor de estas fibras colágenas, es posible reemplazarlos con un polímero de resina para formar un nuevo *composite terapéutico* de una matriz resinosa rellena con polímero biológico fibroso: colágeno. Esta nueva estructura es un híbrido de resina y colágeno. ⁽³⁴⁾

La técnica adhesiva usando el **autograbado** se diferencia del anterior porque usa el barro dentinario como sustrato de adhesión. Estos autograbantes son aplicados a la dentina cubierta por barro dentinario por un período de tiempo determinado. Así se desmineraliza (o "graba") la superficie por el pH

ácido del material, luego, sin lavado con agua consecutivo, el primer contenido en el mismo líquido va infiltrándose simultáneamente va ocurriendo el proceso de desmineralización. Finalmente, una capa de adhesivo de resina contenido también en el mismo líquido se autoaplica a la dentina. Así, todo el proceso de adhesión ocurre en un solo paso. Con estos sistemas, el objetivo es incorporar el barro dentinario a la capa híbrida y simplificar la aplicación de los componentes.⁽³⁵⁾ Por esta razón, en el caso de los adhesivos autograbantes se habla más de una "capa de integración" que de una "capa híbrida", porque integra el barro dentinario a la unión resina-dentina.⁽³⁶⁾ Los autograbantes varían en composición química y una manera de clasificarlos es según la agresividad con que acondicionan los tejidos duros dentales.⁽³⁷⁾ Específicamente en dentina se clasifican en autograbantes poco agresivos, moderadamente agresivos y agresivos, basados en la capacidad que tienen de penetrar en el barro dentinario y en la profundidad con que desmineralizan la dentina subsuperficial a este. Los tipos más agresivos solubilizan completamente el barro dentinario, aunque sea una capa de gran grosor, y forman capas híbridas de un grosor que se aproxima a aquellas que se forman usando una técnicas adhesivas con grabado total.⁽³⁸⁾ Estas últimas, en general, han sido de mayor grosor que las que se forman al usar autograbantes.

Se ha sugerido que las versiones menos agresivas de autograbantes han

fallado en grabar barro dentinario de gran espesor que se da con frecuencia clínicamente, resultando en una menor resistencia a la tracción en la adhesión a dentina. ⁽³⁸⁾

El mayor efecto acondicionador de los autograbantes se basa en la mayor acidez de los monómeros acídicos resinosos que lo componen. Aunque actualmente los autograbantes han sido mejorados notablemente al aumentar la cantidad y acidez de estos monómeros, ⁽³⁹⁾ todavía está el peligro que estos puedan sufrir un efecto buffer por el contenido mineral de capas de barro dentinario de gran grosor. ⁽⁴⁰⁾ Este hecho puede resultar en la disminución del potencial de desmineralización y formación de la capa híbrida por no poder llegar a la dentina subsuperficial. Esto sucede con las versiones menos agresivas de autograbantes y en presencia de barro dentinario de gran espesor. ⁽⁴¹⁾

Sin embargo, Tay F y Pashley DH, 2001 ⁽³⁵⁾ compararon tres autograbantes que difirieron en capacidad acídica y vieron que el grosor de la capa híbrida formada con barro dentinario de gran espesor y poco espesor fue igual o más gruesa que la observada mediante el uso de los mismos adhesivos sobre dentina fracturada sin barro dentinario. Esto sugiere que el efecto buffer que pueden generar barros dentinarios de gran espesor es bajo y que la menor penetrabilidad de autograbantes poco agresivos sería sólo a causa de la

baja acidez de sus monómeros acídicos. En este mismo trabajo se determinó que el autograbante Prompt-L-Pop® (ESPE, Seefeld, Germany) fue la versión más agresiva, disolviendo el barro dentinario y formando capas híbridas sobre barros dentinarios de poco y gran grosor. Una nueva versión de este adhesivo, llamado ahora Adper Prompt-L-Pop® (3M ESPE, St. Paul, USA), tiene un pH aún más bajo. Este adhesivo consta de 2 líquidos que son mezclados antes de efectuar la aplicación sobre las estructuras dentarias. Los componentes de este adhesivo en presentación de dispensador monodosis es:

Líquido 1: ésteres fosfóricos metacrilados, Bis-GMA, iniciador (camforquinona), estabilizadores

Líquido 2 : agua, HEMA (2-hydroxyethyl metacrilato), ácido polialquenoico, estabilizadores.

La teoría de la formación de la capa híbrida plantea que este es el mecanismo de adhesión primario a dentina.⁽³⁴⁾ Esta, a pesar de los medios adversos como variaciones de pH y temperatura, mantiene su integridad mediante una adecuada penetración y polimerización del adhesivo.⁽⁴²⁾

Por otra parte, los tags de resina, que es la porción de resina que se introduce dentro de los túbulos dentinarios desmineralizados, son

impresionantes en apariencia y dan cierta información acerca de la humectancia de los materiales, pero proveen poca o ninguna retención, a menos que se adhieran firmemente a las paredes de los túbulos, lo cual aún se discute. Esto se comprobó con el uso de adhesivos hidrofóbicos convencionales de esmalte que forman largos tags de resina en los túbulos dentinarios pero no se adhieren ya que la resina no es capaz por sí sola de adherirse o humectar adecuadamente las paredes de los túbulos.⁽⁴³⁾ Además se ha demostrado que la adhesión a dentina profunda rica en túbulos de mayor diámetro es generalmente menor.⁽⁴⁴⁾ También se presume que los tags *in vivo* son más cortos porque los túbulos contienen fluido dentinario que reduce la penetración del adhesivo.⁽²⁹⁾ Sin embargo, la presencia de tags de resina en la red de túbulos dentinarios y sus ramificaciones laterales en dentina más profunda podría contribuir en la retención micromecánica.⁽⁴⁵⁾

La fuerza de adhesión que puedan tener los materiales que contengan resina a la dentina depende de la suma individual de la fuerza adhesiva provista por la superficie de adhesión, la formación de tags de resina siempre y cuando estén íntimamente adheridos a las paredes de los túbulos dentinarios y con ramificaciones laterales, y a la generación de la capa híbrida a expensas de infiltración de resina en la matriz colágena de la dentina intertubular, especialmente.⁽¹⁸⁾

Al analizar la calidad de la adhesión obtenida con diferentes adhesivos, se comprobó que una técnica con un adhesivo de autograbado logró mayores valores de adhesión que una técnica adhesiva con grabado ácido.⁽⁴⁶⁾ Sin embargo en otros estudios no se hallaron diferencias entre el uso de técnicas similares.^(47,48) Por otro lado, una recopilación de datos de resultados de pruebas de microtracción (μ TBS) usando un gran número de adhesivos de diferentes tipos en Leuven, Bélgica ⁽⁴⁹⁾ demostró que este tipo de adhesivos fue el que menos resistencia a la microtracción tuvo en comparación a adhesivos aplicados con la técnica de grabado ácido en 2 o 3 pasos, ya sea en esmalte como en dentina. Estudios donde se analiza la resistencia a la tracción de materiales adhesivos, da cuenta de la fuerza adhesiva alcanzada por la determinada técnica ocupada en instancias iniciales después de su aplicación, pero no considera su durabilidad en el tiempo ni factores presentes *in vivo* que pueden deteriorarla. Sin embargo, es un dato relevante para ver qué calidad de adhesión se puede lograr con el material.⁽⁴⁹⁾

En el último tiempo la dentina radicular ha llegado a ser un sustrato importante para los procedimientos adhesivos en situaciones clínicas donde se requiere el uso de postes retenidos con cemento en base a resina en piezas dentarias tratadas con endodoncia.

Al efectuar una técnica adhesiva en el conducto radicular, el material

que está en íntimo contacto con la dentina, al igual que en dentina coronaria es el adhesivo. Por esta razón, es vital analizar cómo se comportaría el adhesivo al ser aplicado sobre esta superficie, dado que dependiendo del tipo que se ocupe es cómo la superficie dentinaria será primero penetrada y luego impregnada por este, pudiendo afectar la calidad de la adhesión. Los adhesivos de tipo autograbantes representan una opción llamativa para su aplicación en la dentina del conducto radicular. Presentan una serie de ventajas en comparación con la técnica de grabado ácido :

1. Tienen menor sensibilidad a la técnica de manipulación

No hay riesgo de desecar la matriz colágena dentinaria,^(50,51) a diferencia de la técnica de grabado ácido, ya que al hacerse el grabado dentario en un primer paso, es probable que la dentina se seque en exceso o al contrario, dejarla demasiado mojada antes de aplicar el adhesivo. En el caso de los autograbantes esto no sucede, ya que el agua es componente fundamental en ellos. Su presencia hace posible la ionización de los monómeros acídicos para que estos logren la desmineralización efectiva de los tejidos duros dentales.⁽³⁵⁾ Así estos adhesivos se aplican sobre dentina y luego se secan ligeramente con aire en vez de lavarlos.⁽⁵²⁾ Este control de la humedad dentinaria es

crítico para lograr una buena adhesión ⁽¹⁸⁾ y se hace más dificultoso en técnicas adhesivas en el conducto radicular por su gran longitud y poca visibilidad. Por esta razón los autograbantes supondrían una simplificación en el proceso.

2. **Discrepancia entre profundidad de desmineralización y profundidad de infiltración del adhesivo es menor**

Esto es factible gracias a que ambos procesos ocurren simultáneamente.⁽⁵³⁾ En el caso del grabado ácido, si se graba la dentina excesivamente (más de 60 segundos) se desmineraliza en tal profundidad, que el adhesivo no puede infiltrar hasta ese nivel, dejando una zona de dentina desmineralizada bajo la capa híbrida.⁽⁵⁴⁾ Esta impregnación incompleta causa una disminución de la fuerza adhesiva de las estructuras involucradas.⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾ Esto es explicable porque queda una capa de colágeno sin sustento mineral ni adhesivo circundantes, que se degrada en el tiempo por hidrólisis y es frágil.⁽⁵⁸⁾

3. **Aplicación en un solo paso**

Primeramente los autograbantes existían en presentación de aplicación en 2 pasos (acondicionador/primer + adhesivo) pero desde hace unos

años las 3 acciones (acondicionador, primer y adhesivo) se combinan en un solo paso, lo que simplifica más aún la labor clínica.⁽⁵⁹⁾

Esto pareciera ser muy conveniente en la práctica clínica y la teoría acerca del acondicionamiento de la superficie con barro dentinario. Sin embargo no considera la fuerza adhesiva que esta unión tiene. Se ha mostrado que la fuerza de unión a dentina del conducto radicular con el uso de adhesivos con grabado ácido y sistemas de adhesión autograbantes es similar.⁽⁴⁸⁾ A su vez otros trabajos han demostrado que ambos métodos de adhesión presentaron menor resistencia a la microtracción que a dentina coronaria.⁽⁶⁰⁻⁶³⁾

La dentina radicular tiene diferente morfología que la dentina coronaria. Lo especial radica en que la primera tiene menor número de túbulos dentinarios y esto se acentúa más aún hacia la dentina en la zona apical.⁽⁶⁴⁾

En un estudio de adhesión en conducto radicular, se determinó que la adhesión a dentina de conducto radicular tuvo estadísticamente menos fuerza adhesiva que a dentina de la cámara pulpar,⁽⁴⁷⁾ probablemente debido a la menor cantidad de túbulos dentinarios y además, en consecuencia de esto, al

menor tamaño y cantidad de ramificaciones laterales de túbulos dentinarios que tiene la dentina radicular.⁽⁶⁵⁾

Este hecho también fue apoyado por un trabajo que comparó la resistencia a la microtracción de 2 sistemas adhesivos en el conducto radicular. Se vio, además, que sus valores fueron menores que los obtenidos en dentina de la cámara pulpar.⁽⁴⁸⁾

Estos hallazgos sumados a las características anatómicas de la dentina de los conductos radiculares suman factores de gran importancia clínica a considerar, en el caso de efectuar un tratamiento restaurador ocupando técnicas adhesivas, ya que se debe elegir un modo de acondicionar las paredes del conducto.

Este sustrato es de gran relevancia ya que difiere en características histológicas a la dentina coronaria⁽⁶⁴⁾ y por lo tanto los patrones de adhesión son diferentes. Este sustrato se va modificando ya sea fisiológicamente o patológicamente a través de la vida del individuo. La dentina puede esclerosarse por el factor edad.⁽⁶⁶⁾ La esclerosis es el resultado de la oclusión de los túbulos dentinarios por una sustancia mineral con un índice refractario similar a la dentina normal. Se caracteriza por cambiar de opaca a translúcida, hecho que aparece antes que la mayoría de los túbulos estén completamente obliterados.⁽⁶⁷⁾ Esta condición comienza en la dentina apical adyacente al

cemento y se va extendiendo coronalmente y hacia el canal radicular con el aumento de la edad.⁽⁵⁾ Estos factores concernientes al sustrato dentinario y por otro lado la manera en que interacciona el adhesivo con la superficie radicular son de gran relevancia al considerar la calidad de la adhesión obtenida con biomateriales resinosos.

Hipótesis

“La morfología de la adhesión obtenida con el adhesivo Adper Prompt-L-Pop se relaciona con la estructura del sustrato dentinario”.

Objetivo General:

Determinar que la estructura del sustrato dentinario se relaciona con la morfología de la adhesión obtenida con el adhesivo Adper Prompt-L-Pop

Objetivos Específicos:

- Cuantificar morfométricamente la zona híbrida obtenida con el adhesivo Adper Prompt-L-Pop
- Relacionar la morfología de la adhesión obtenida con la anatomía e histología radicular de la dentina
- Relacionar la morfología de la adhesión obtenida con la edad de los individuos
- Relacionar la morfología de la adhesión obtenida con la naturaleza del adhesivo
- Detectar la presencia de cationes bivalentes en el proceso de adhesión

Materiales y Métodos

Materiales para procedimiento

- Adhesivo Adper Scotchbond® (3M ESPE, St. Paul, Minnesota, USA)
- Adhesivo Adper Prompt-L-Pop® presentación dispensador monodosis (3M ESPE, St. Paul, Minnesota, USA)
- 10 caninos permanentes extraídos por indicación ortodóncica de pacientes entre 15 y 20 años macroscópicamente sin caries y con formación apical completa, conservados en suero fisiológico 1 mes antes de comenzar las pruebas
- 10 dientes uniradiculares extraídos por indicación periodontal de pacientes entre 40 y 70 años de edad conservados en suero fisiológico
- suero fisiológico NaCl 0.9%
- Micropinceles Points® superfine (SDI, Bayswater, Victoria, Australia)
- Limas endodónticas tipo Hedstroem nº 15-40 y 45-80 (Dentsply/Maillefer)
- Turbina KAVO® modelo supertorque 660B
- Fresa carbide fisura larga tronco-cónica 0.5mm de diámetro
- Lámpara de fotopolimerización nueva modelo 3M ESPE Elipar® 2500 Halogen (3M ESPE, St. Paul, Minnesota, USA)
- Formalina Buffer al 10%

Selección de la muestra

En este estudio se usaron 10 caninos permanentes incluidos extraídos por indicación ortodóncica y 10 dientes uniradiculares extraídos por razones periodontales de pacientes entre 40 y 70 años.

Técnica adhesiva

Una vez extraídos se mantuvieron en suero fisiológico por aproximadamente 1 mes antes de comenzar la etapa experimental. Todos los dientes fueron decoronados transversalmente a nivel del techo de la cámara pulpar. Luego fueron seccionados transversalmente en 3 segmentos por diente, quedando uno conteniendo la cámara pulpar, otro el tercio cervical radicular y otro el tercio medio y apical radicular. Para este efecto se utilizó una turbina marca KAVO® supertorque 660B con una fresa de *carbide* troncocónica de 0,5mm de diámetro. Posteriormente cada segmento fue instrumentado por su porción del conducto radicular dentario en dirección al eje mayor del diente usando limas tipo Hedstroem hasta el nº 70. Una vez ensanchado el conducto de cada segmento se seccionó cada uno en 2 partes en dirección vestíbulo lingual/palatino, quedando cada uno con un hemicanal radicular. Se fue cortando uno a uno y separando en frascos rotulados. Se le asignaron siglas con números y letras para diferenciarlos. Así, por cada diente quedaron 6 segmentos con una porción de hemicanal

radicular cada uno, 2 del área de la cámara pulpar, 2 del tercio cervical radicular y 2 del tercio medio radicular. A cada hemicanal por área (cámara pulpar, tercio cervical y tercio medio) se le aplicó el adhesivo Adper Prompt-L-Pop® según indicaciones del fabricante. Al hemicanal homólogo correspondiente se le aplicó el adhesivo Adper Scotchbond® según indicaciones del fabricante, que sirvió de grupo control en el mismo diente, ya que este adhesivo es considerado el *gold standard* ⁽⁴⁹⁾. Ambas técnicas usaron una lámpara de polimerización por luz halógena nueva modelo Elipar 2500 3M ESPE®. Este método se aplicó tanto a los dientes jóvenes como a los dientes extraídos por razones periodontales. Una vez hecha la técnica adhesiva se insertó cada segmento en un recipiente individual con formalina buffer al 10% para fijarlos y realizar posteriormente el procesamiento histológico.

Procesamiento histológico

Los especímenes una vez fijados en formalina buffer al 10% se desmineralizaron en ácido fórmico al 10% por 10 días. Los segmentos dentarios desmineralizados fueron deshidratados en etanoles de concentraciones crecientes, aclarados en xilol e incluidos en parafina histológica. De cada espécimen se obtuvieron cortes seriados de 6µm de grosor, los que se colocaron sobre portaobjetos silanizados para su posterior tinción con azul de

toluidina al 0.5%.

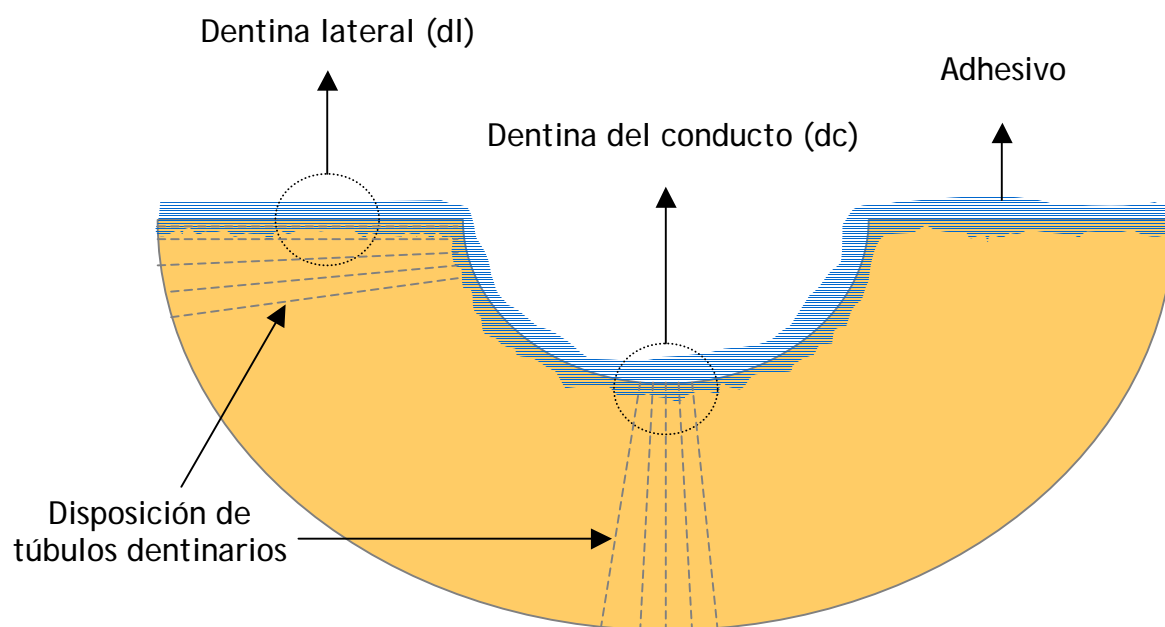
Análisis morfométrico

Se obtuvieron imágenes histológicas estandarizadas de cada espécimen utilizando un microscopio ZEISS Axioscop, al cual se le adicionó una cámara Sony DXC-390 3 CCD conectada a una tarjeta digitalizadora Data Translation DT3154. Las imágenes obtenidas fueron archivadas en formato JPEG. Se realizó análisis morfométrico de la interacción adhesivo-superficie dentinaria utilizando el software UTHSCSA Image Tool v 3.0. Este análisis consistió en hacer mediciones del grosor de la capa híbrida visible en cada espécimen. Dada la forma de las muestras, se hicieron mediciones tanto en la dentina del conducto como en la dentina lateral para hacer más objetivo el análisis. (ver esquema 1) Se efectuaron 20 mediciones en la dentina lateral y 10 en la dentina del conducto, sacando una media de estos como valor para cada zona. Para efecto del análisis en la dentina del conducto se realizó menor cantidad de mediciones ya que, en general, en dichas imágenes no fue posible establecer claramente más sitios de medición confiables. Adicionalmente, todo el análisis cualitativo fue realizado visualizando solamente zonas de dentina del conducto. Las imágenes fueron calibradas mediante una cámara de Neubauer (Boeco, Germany) para estandarizar las mediciones. En total la

muestra constó de 240 especímenes. Los datos se analizaron estadísticamente mediante el análisis de varianza para las 4 variables para relacionar la capa híbrida formada entre el adhesivo Adper Prompt-L-Pop y el control con el sustrato dentinario, siendo este por un lado de diferente ubicación anatómica (ubicación o altura radicular), ubicación en la muestra (dentina lateral o del conducto) y por otro, de diferente composición estructural. (dientes jóvenes y adultos)

Evaluación citoquímica por captura de iones de calcio

Este proceso se realizó para ver la interacción del adhesivo con los iones bivalentes presentes en la dentina (donde el calcio es el más importante), a manera de poder establecer una relación entre los adhesivos utilizados y la morfología de las estructuras adhesivas que presentaron. Cortes seriados de 6µm fueron incubados en una solución alcohólica de glyoxal bis (2-hidroxy-anil) (GBHA) de acuerdo con la técnica de Kashiwa y Atkinson y contrastados con una solución fast green FCF.⁽⁶⁸⁾ La reacción citoquímica fue observada y las imágenes se capturaron utilizando el mismo sistema ocupado en las muestras teñidas con azul de toluidina al 0,5%.



Esquema 1 Representación de un espécimen, que corresponde a una porción del conducto radicular cortada transversalmente y luego por la mitad longitudinalmente, quedando una porción de hemicanal radicular. Se hicieron mediciones de capa híbrida (análisis cuantitativo) tanto en dentina lateral como en la dentina del conducto y análisis cualitativo en zonas solamente de dentina del conducto.

Resultados

Análisis cuantitativo

Los valores promedio de grosor de capa híbrida son el resultado del promedio de las mediciones hechas en un total de 10 dientes. (ver tabla I) En la figura 1 pueden observarse las estructuras involucradas en la adhesión a dentina radicular con el adhesivo del grupo control (Adper Scotchbond). En la figura 2 se observan las estructuras involucradas con el adhesivo experimental Adper Prompt-L-Pop. Las variables fueron GRUPO (Control o adhesivo Adper Prompt-L-Pop), ALTURA DENTARIA (cámara pulpar, tercio cervical o tercio medio), DIENTE (joven o adulto) y DENTINA (conducto radicular o lateral). Los valores se agruparon según lo muestran las tablas en la Tabla I.

El grosor promedio de la capa híbrida en diente joven en dentina del conducto (dc) para cámara pulpar (CP) con adhesivo Adper Prompt-L-Pop (PLP) fue de $6,6 \pm 1,5 \mu\text{m}$ y para el control fue $7,8 \pm 1,4 \mu\text{m}$. Para PLP en tercio cervical (TC) fue $6,5 \pm 2,2 \mu\text{m}$ y para el control $7,7 \pm 2,7 \mu\text{m}$. Para PLP en tercio medio (TM) fue de $5,6 \pm 1,8 \mu\text{m}$ y para el control $6,4 \pm 2,5 \mu\text{m}$. El grosor promedio de capa híbrida en diente joven en dentina lateral (dl) para CP con adhesivo PLP fue de $6,0 \pm 2,3 \mu\text{m}$ y para el control $5,4 \pm 1,5 \mu\text{m}$. Para

TC con PLP fue de $4,7 \pm 0,8 \mu\text{m}$ y para el control $5,2 \pm 1,8 \mu\text{m}$. Para TM con PLP fue de $5,0 \pm 1,8 \mu\text{m}$ y para el control $4,9 \pm 1,2 \mu\text{m}$. El grosor promedio en capa híbrida en diente adulto en dc con PLP en CP fue de $7,1 \pm 0,9 \mu\text{m}$ y para el control fue de $8,0 \pm 2,4 \mu\text{m}$. Para TC con PLP fue de $6,6 \pm 2,0 \mu\text{m}$ y para el control fue de $7,9 \pm 1,9 \mu\text{m}$. Para TM con PLP fue de $6,5 \pm 1,8 \mu\text{m}$ y para el control fue de $7,6 \pm 2,2 \mu\text{m}$. El grosor promedio de capa híbrida en diente adulto en dl con PLP en CP fue de $5,8 \pm 1,1 \mu\text{m}$ y para el control $6,3 \pm 1,1 \mu\text{m}$. Para TC con PLP fue $5,4 \pm 0,9 \mu\text{m}$ y para el control $5,9 \pm 1,6 \mu\text{m}$. Para TM con PLP fue $5,7 \pm 1,8 \mu\text{m}$ y para el control $6,2 \pm 1,7 \mu\text{m}$.

Aplicando el test **ANOVA** de 4 entradas a las 240 muestras analizadas se verificaron los datos estadísticamente con un nivel de significancia del 5%. Se utilizó el software Systat®. El análisis puede observarse en la tabla II.

Diente JOVEN dc	Control	PLP
	X ± DS	X ± DS
CP	7,8 ± 1,4	6,6 ± 1,5
TC	7,7 ± 2,7	6,5 ± 2,2
TM	6,4 ± 2,5	5,6 ± 1,8

Diente JOVEN dl	Control	PLP
	X ± DS	X ± DS
CP	5,4 ± 1,5	6,0 ± 2,3
TC	5,2 ± 1,8	4,7 ± 0,8
TM	4,9 ± 1,2	5,0 ± 1,8

Diente ADULTO dc	Control	PLP
	X ± DS	X ± DS
CP	8,0 ± 2,4	7,1 ± 0,9
TC	7,9 ± 1,9	6,6 ± 2,0
TM	7,6 ± 2,2	6,5 ± 1,8

Diente ADULTO dl	Control	PLP
	X ± DS	X ± DS
CP	6,3 ± 1,1	5,8 ± 1,1
TC	5,9 ± 1,6	5,4 ± 0,9
TM	6,2 ± 1,7	5,7 ± 1,8

Tabla I Valores promedio de grosor de capa híbrida en micrones. Leyenda :

dc= dentina conducto radicular, dl=dentina lateral, CP=cámara pulpar,

TC=tercio cervical, TM=tercio medio, PLP=adhesivo Adper Prompt-L-

Pop

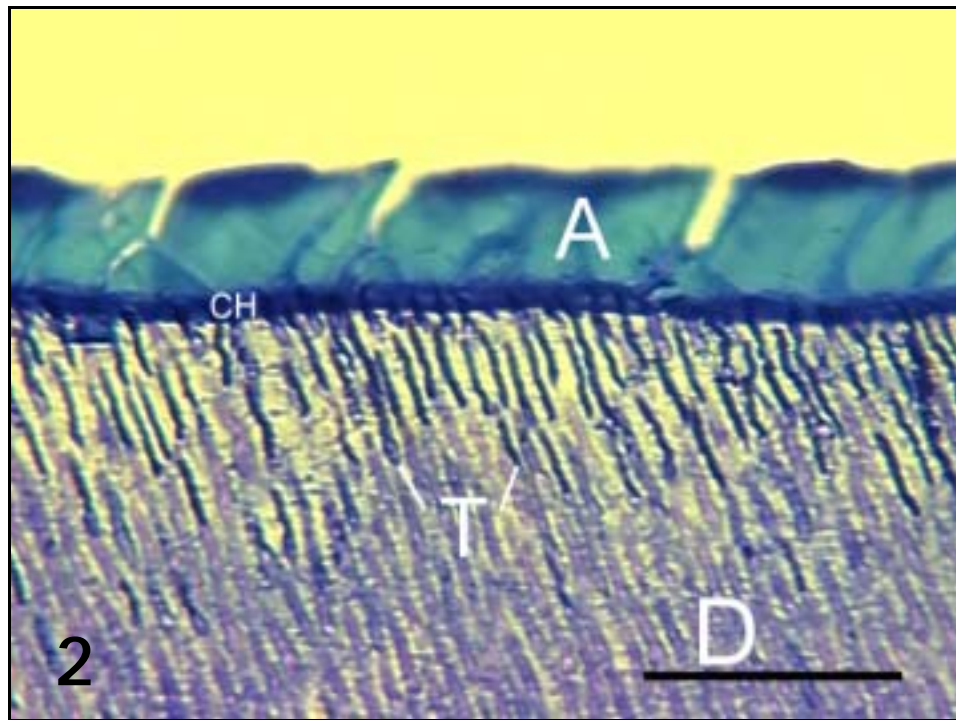
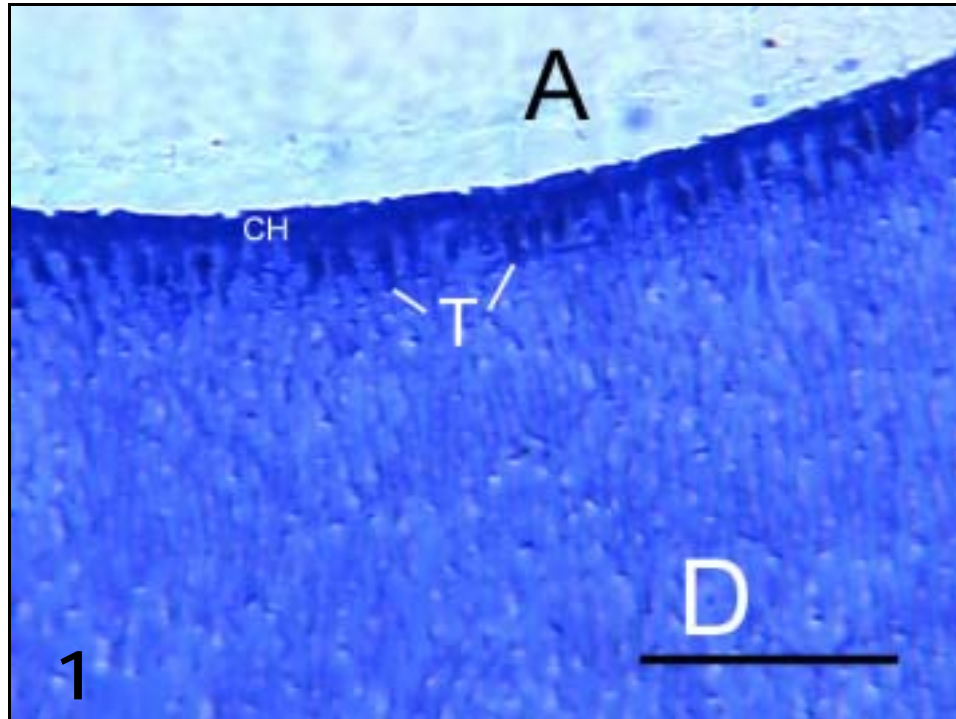
Leyenda Figuras

Figura 1 Grupo Control (adhesivo Adper Scotchbond) en dentina radicular.

Tinción azul de toluidina, 25x. Barra escala=50µm. A=adhesivo, CH=capa híbrida, T=tags de adhesivo, D=dentina sin hibridización

Figura 2 Grupo experimental (adhesivo Adper Prompt-L-Pop) en dentina radicular. Tinción azul de toluidina, 25x. Barra escala=50µm.

A=adhesivo, CH=capa híbrida, T=tags de adhesivo, D=dentina sin hibridización.



Fuente de variación	Suma cuadrados	grado libertad	Cuadrado medio	valor F	f
ALTURA DENTARIA\$	15.881	2	7.941	2.483	0.086
GRUPO \$	24.704	1	24.704	7.725	0.006
DIENTE \$	21.612	1	21.612	6.758	0.010
DENTINA\$	134.880	1	134.880	42.175	0.000
ALT DENT\$GRUPO\$	1.869	2	0.935	0.292	0.747
ALT DENT\$DIENTES\$	5.853	2	2.927	0.915	0.402
ALT DENT\$DENTINA\$	6.425	2	3.212	1.004	0.368
GRUPO\$DIENTES\$	1.445	1	1.445	0.452	0.502
GRUPO\$DENTINA\$	12.150	1	12.150	3.799	0.053
DIENTES\$DENTINA\$	0.602	1	0.602	0.188	0.665
ALT DENT\$GRUPO\$DIENTES\$	0.604	2	0.302	0.094	0.910
ALT DENT\$GRUPO\$DENTINA\$	0.253	2	0.127	0.040	0.961
ALT DENT\$DIENTES\$DENTINA\$	1.068	2	0.534	0.167	0.846
GRUPO\$DIENTES\$DENTINA\$	0.796	1	0.796	0.249	0.618
ALT DENT\$GRUPO\$DIENTES\$DENTINA\$	1.483	2	0.741	0.232	0.793
Error	690.783	216	3.198		

Tabla II ANÁLISIS DE VARIANZA

Cuando los datos fueron analizados para la variable "Altura dentaria", esta por poco margen no dio diferencias estadísticamente significativas en el grosor de capa híbrida en cámara pulpar, tercio cervical o tercio medio. ($p > 0.05$) Para analizar las variables por separado fue aplicado el test post-hoc de Tukey el cual tampoco dio diferencias estadísticamente significativas entre ellas ($p > 0.05$) Para la variable "GRUPO" existió diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre el adhesivo Adper Prompt-L-Pop y el control, teniendo este último mayor grosor en la capa híbrida formada. Para la variable "DIENTE" también hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los dientes

jóvenes y adultos, teniendo estos últimos mayor grosor de capa híbrida formada en su superficie. Para la variable "DENTINA" también existió diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la dentina del conducto y la dentina lateral. La dentina del conducto radicular presentó mayores grosores en la capa híbrida. Ninguna asociación de las variables presentó diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) Sin embargo, cabe destacar la asociación GRUPO/DENTINA donde se obtuvo una significancia levemente superior al 5 %. ($p=0.053$)

En los siguientes gráficos se pueden apreciar las variables que mostraron diferencias estadísticamente significativas.

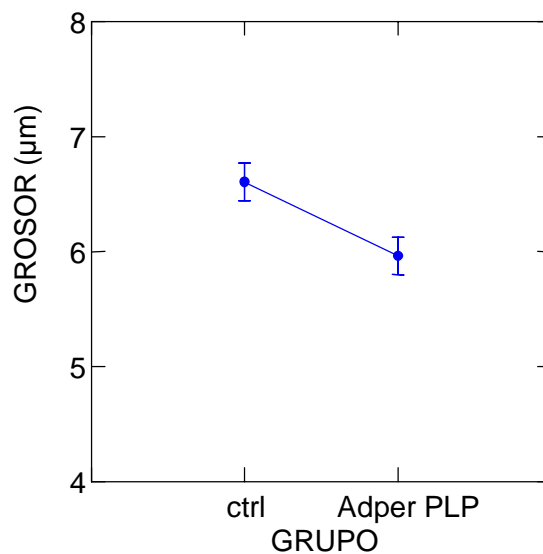


Figura 3. GROSOR DE CAPA HÍBRIDA POR GRUPO EXPERIMENTAL

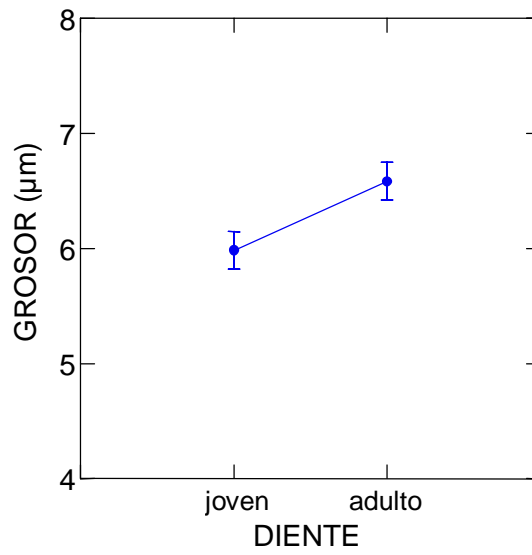


Figura 4. GROSOR DE CAPA HÍBRIDA POR DIENTE

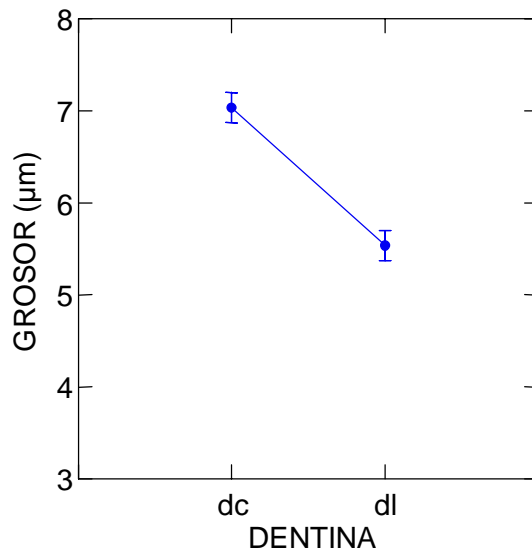


Figura 5. GROSOR DE CAPA HÍBRIDA POR DENTINA: dc=dentina conducto radicular, dl=dentina lateral

Análisis cualitativo

En la muestra analizada, tanto los especímenes experimentales como el control fueron capaces de formar una capa híbrida. Esta se aprecia como una zona densa color azul en la zona más periférica, en contacto con el adhesivo. Sin embargo, la morfología de ésta y la interacción que tienen los adhesivos con el sustrato dentinario son diferentes. El adhesivo Adper Prompt-L-Pop presenta, en general, capas híbridas menos definidas y una mayor difusión al interior de los túbulos dentinarios. Esta situación es evidente cuando estos se disponen perpendiculares a la superficie. La alta difusión del adhesivo compromete en ciertas ocasiones la formación de una capa híbrida regular. (ver figura 6) Donde la disposición de los túbulos es paralela a la superficie se formó una capa híbrida homogénea, pero con tags de menor longitud.

El adhesivo Adper Prompt-L-Pop penetra a través de los túbulos dentinarios formándose tags de resina de longitud variable desde la zona inferior de la capa híbrida. Fue frecuente observar que el adhesivo ocupa la totalidad del lumen tubular, tomando contacto con las paredes de dentina intertubular. En zonas más profundas se visualiza una interrupción de la morfología del tag, hecho que se aprecia como estructuras corpusculares de tamaño y densidad variables. (ver figura 7)

En otro corte longitudinal es posible ver con más detalle la forma en que el

adhesivo ocupa todo el lumen de los túbulos hasta contactar con la pared de la dentina intertubular. Además se observan las ramificaciones laterales de los túbulos dentinarios infiltradas con adhesivo.

(ver figura 8)

Al corte transversal se observa el adhesivo Adper Prompt-L-Pop presente en los túbulos dentinarios, abarcando todo el lumen de este. Es notable también apreciar que hay túbulos que se encuentran infiltrados por adhesivo, pero sólo por la zona ocupada por la dentina intratubular. Esta situación se observa como formas anulares color azul con un centro circular sin tinción. (ver figura 9)

Leyenda de figuras

Figura 6. Adhesivo Adper Prompt-L-Pop en dentina del conducto radicular.

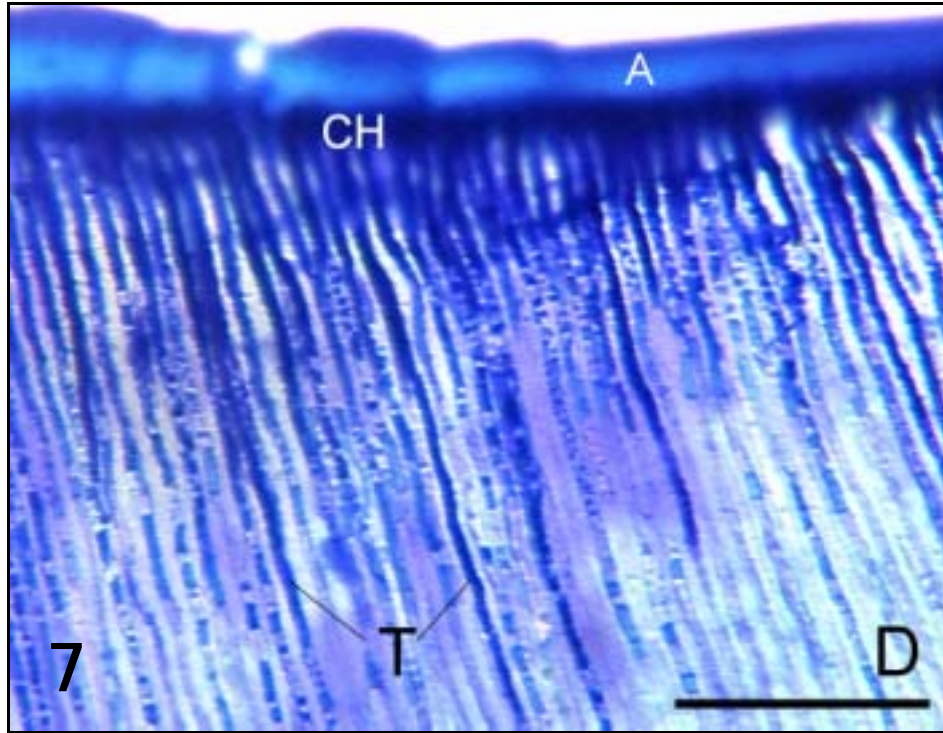
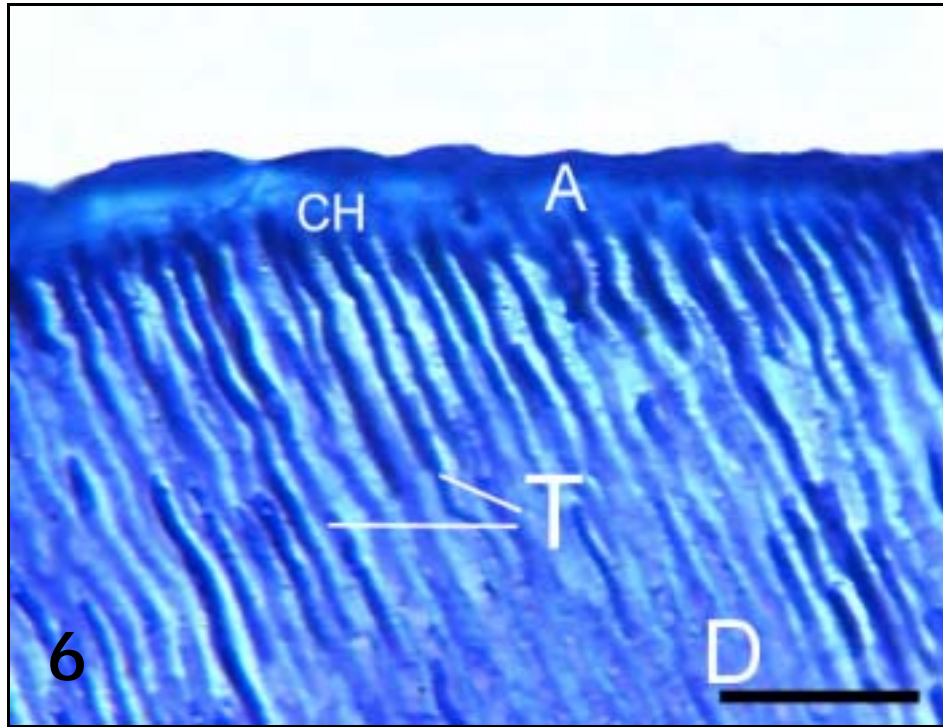
Nótese que la alta penetrabilidad del adhesivo compromete la formación de una capa híbrida regular. Tinción azul de toluidina, 40x, barra escala = 25 μ m. A=adhesivo, CH=capa híbrida, T=tags de adhesivo, D=dentina sin hibridizar

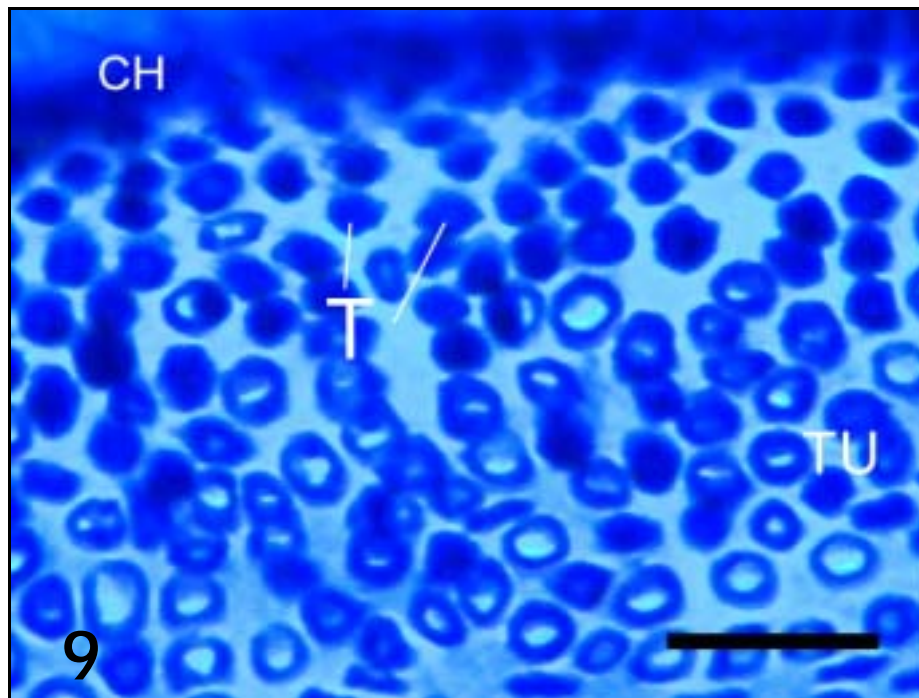
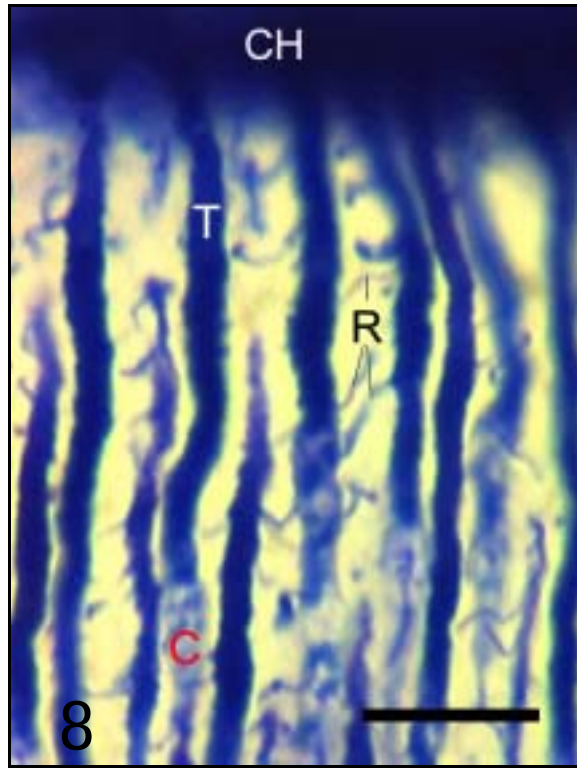
Figura 7. Adhesivo Adper Prompt-L-Pop en dentina del conducto radicular. Se

presenta una gran difusión del adhesivo por los túbulos dentinarios, ocupando todo el lumen de ellos y formando estructuras corpusculares de diferente densidad. Tinción azul de toluidina, 25x, barra escala = 50 μ m. A=adhesivo, CH=capa híbrida, T=tags de adhesivo, D=dentina sin hibridizar

Figura 8 Adhesivo Adper Prompt-L-Pop en dentina del conducto radicular. Tinción azul de toluidina, 100x, barra escala = 12.5µm. CH=capa híbrida, T=tags de adhesivo, R=ramificaciones laterales infiltradas de adhesivo, C=corpúsculos de adhesivo.

Figura 9. Adhesivo Adper Prompt-L-Pop infiltrando túbulos dentinario, corte transversal. Nótese que el adhesivo ocupa todo el lumen de los túbulos. Además se aprecian formas anulares azules con el centro sin teñir. Tinción azul de toluidina, 100x, barra escala = 12.5µm (derecha). A=adhesivo, CH=capa híbrida, T= Tags de adhesivo, TU=túbulos dentinarios con adhesivo sólo en su periferia formando un anillo.



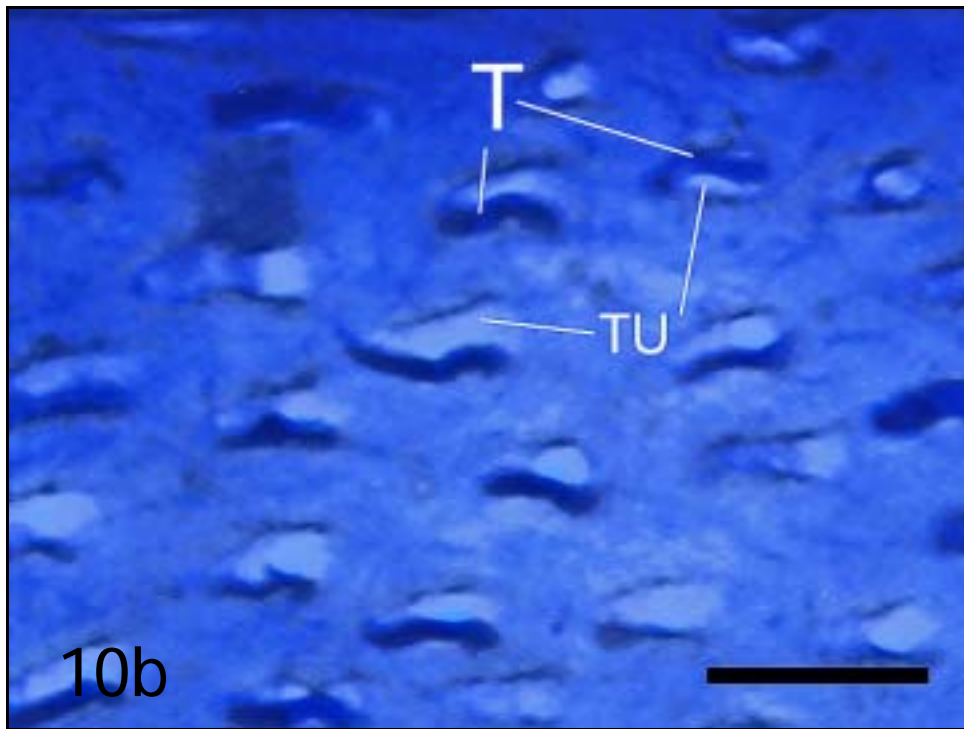
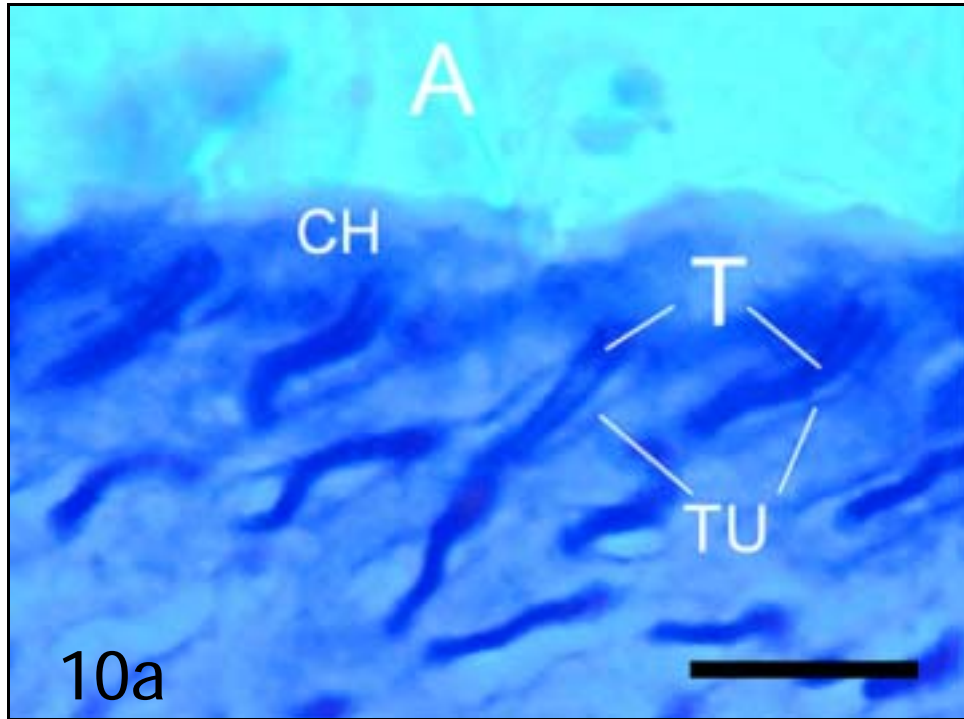


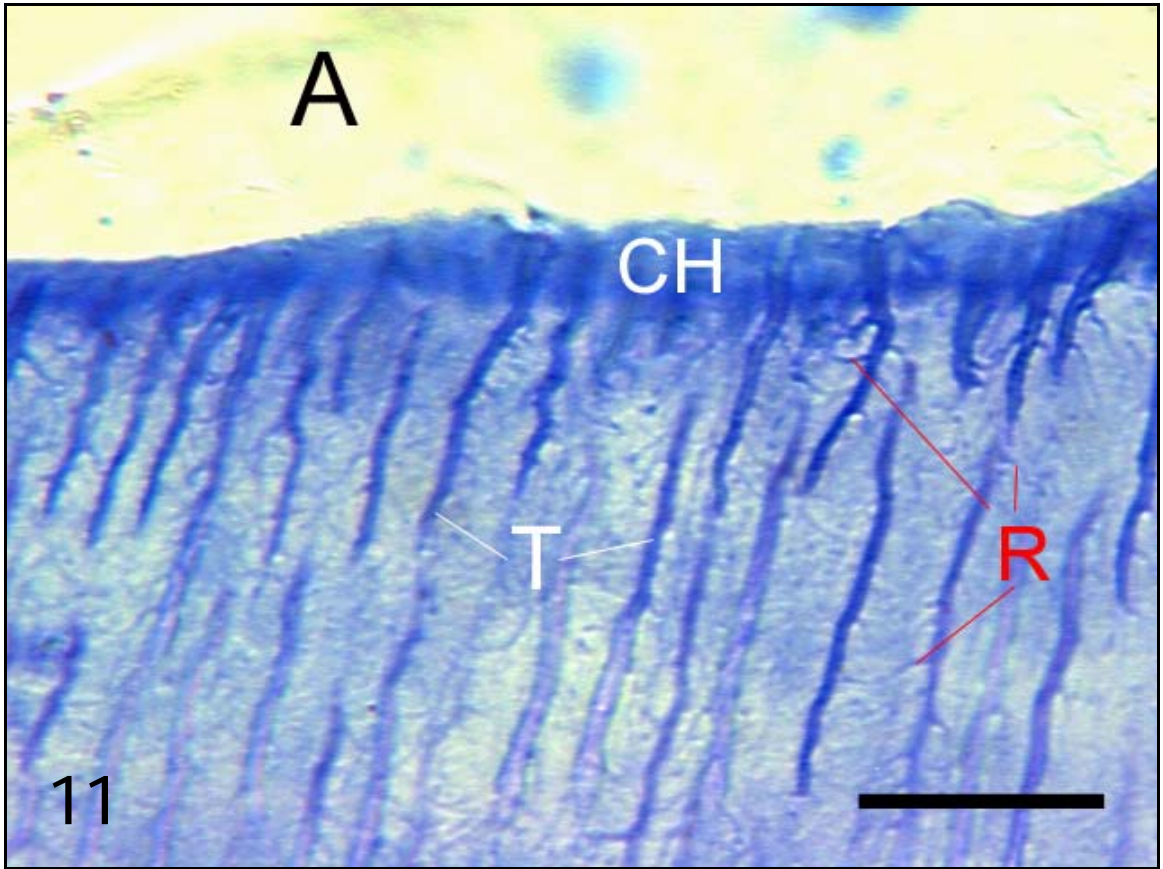
El grupo control muestra capas híbridas más definidas y tags de adhesivo de menor longitud y con la forma de terminación característica de "embudo". El adhesivo no ocupa todo el lumen del túbulo dentinario, hecho apreciable en las figuras 10^a y 10b. Es frecuente, además, que difunda por las ramificaciones laterales de los túbulos dentinarios. (ver figura 11) En relación a la disposición de los túbulos dentinarios, el grupo control se comporta igual al espécimen experimental, difundiendo más cuando los túbulos se disponen perpendicularmente a la superficie, es decir, en la dentina del conducto radicular.

Leyenda de figuras

Figuras 10a/10b Adhesivo grupo control en dentina radicular, corte longitudinal (10a) y longitudinal-oblicuo (10b) Nótese que los tags de adhesivo no ocupan el túbulo dentinario en toda su extensión y tienen la forma de “embudo”. Tinción azul de toluidina, 100x, barra escala=12.5µm. A=adhesivo, CH=capa híbrida, T=tags de adhesivo, TU=túbulos dentinarios con zonas sin adhesivo

Figura 11. Adhesivo Adper Scotchbond (control) en dentina del conducto radicular. Tinción azul de toluidina, 40x, barra escala = 25µm. A=adhesivo, CH=capa híbrida, T=tags de adhesivo, R=ramificaciones laterales infiltradas de adhesivo





Evaluación cualitativa de reacción citoquímica por captura iónica de calcio

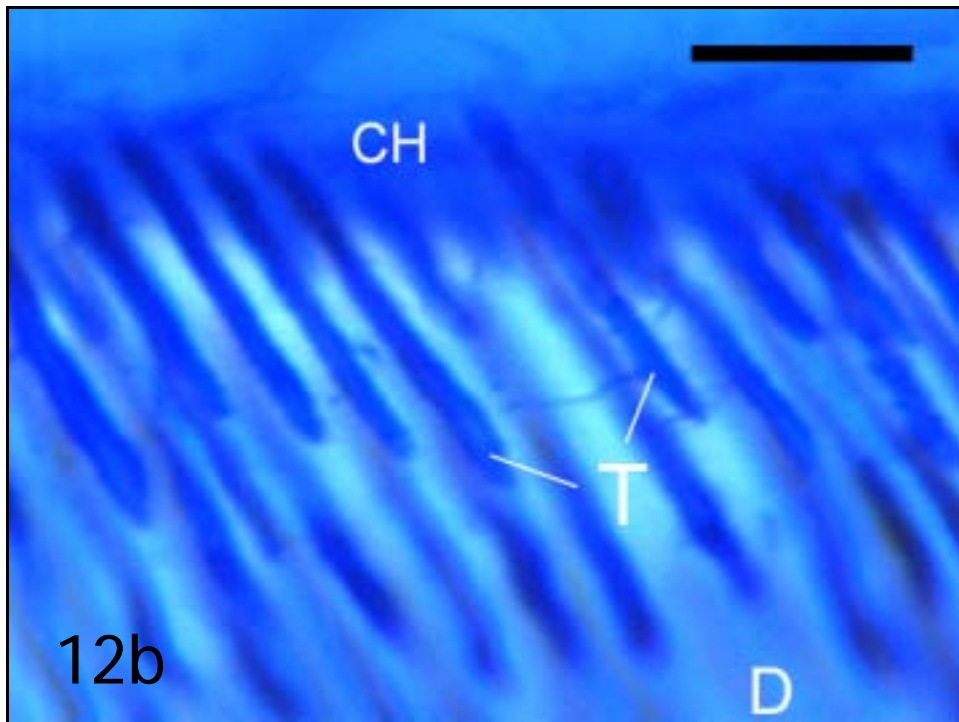
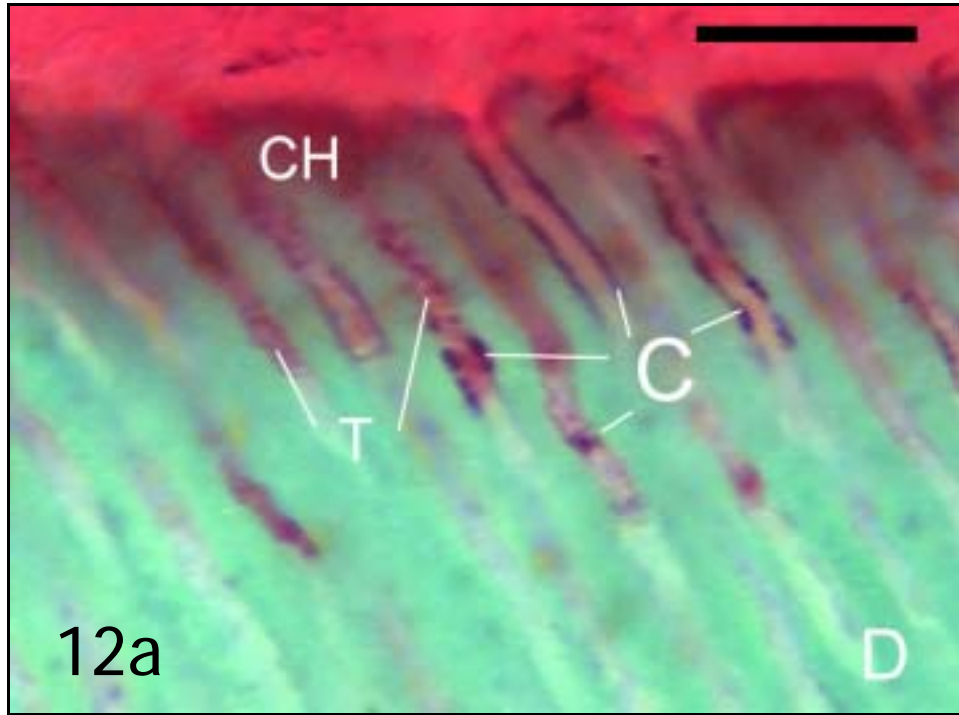
La reacción citoquímica por captura iónica de Calcio, a través de la tinción GBHA, en el caso del espécimen experimental Adper Prompt-L-Pop, muestra la formación de una capa híbrida poco homogénea, de color rojo intenso, con tags de resina del mismo color, a profundidades variables. A su vez es posible observar precipitados de forma corpuscular y color rojo en el interior de los túbulos dentinarios, asociados directamente con los tags de resina. (ver figuras 12a y 12b) En el caso del grupo control, existe una capa híbrida homogénea de color rojo pálido con algunos corpúsculos de forma redondeada inmersos. Estas entidades en los tags de adhesivo no son apreciables, sólo en la periferia de ellos. (ver figuras 13a y 13b)

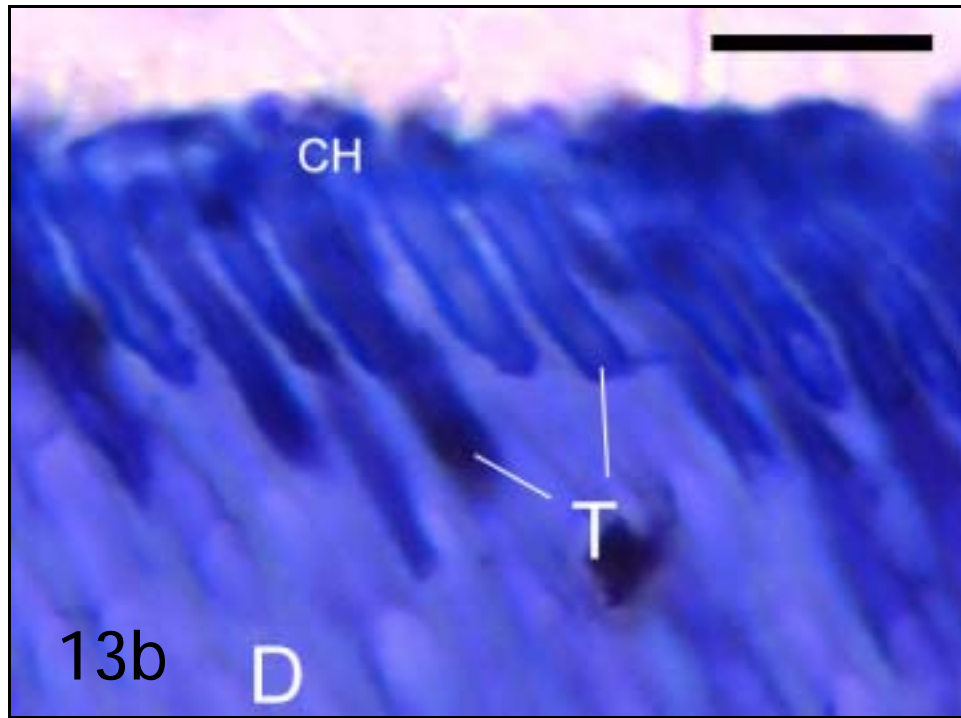
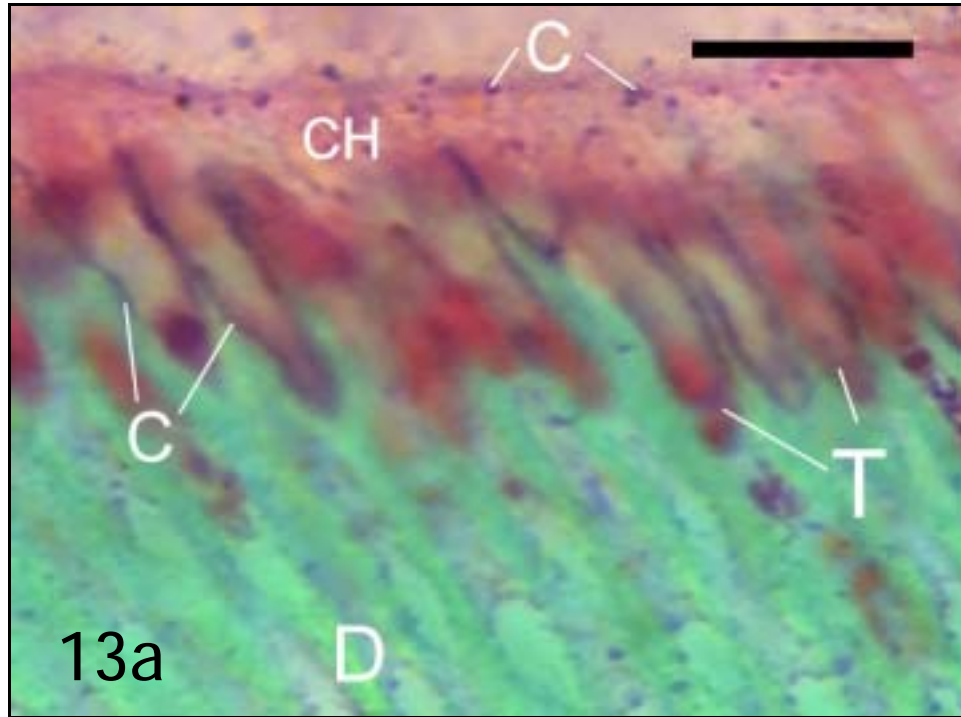
El contraste con fast green FCF nos permite visualizar la histología normal de la dentina bajo la zona híbrida, donde se aprecia la morfología de los túbulos dentinarios y la dentina intertubular que se ve de color verde. Un hecho importante a destacar, es que bajo la zona híbrida y tags de resina, la reacción citoquímica no fue detectada.

Leyenda de figuras

Figura 12a/12b. Adhesivo Adper Prompt-L-Pop en dentina radicular, mismo corte. Se aprecia una capa híbrida teñida de rojo y la gran difusión que tiene el adhesivo y el íntimo contacto entre éste y las paredes de los túbulos dentinarios. Los tags siguen la forma de estos sin presentar la terminación característica de “embudo”. Son apreciables depósitos corpusculares dispuestos alrededor y dentro de los tags de adhesivo. Tinción GBHA/fast green (12a) y azul de toluidina (12b), 100x, barra escala=12.5µm. CH=capa híbrida, C=corpúsculos, T=tags de adhesivo, D=dentina sin reacción.

Figura 13a/13b. Grupo Control en dentina radicular, mismo corte. Se observan tags de menor longitud y que terminan en forma de “embudo” sin seguir en todo su trayecto la morfología del túbulo dentinario. Depósitos corpusculares son visibles alrededor de los tags de adhesivo y en la capa híbrida. Tinción GBHA/fast green (13a) y azul de toluidina (13b), 100x, barra escala=12.5µm. CH=capa híbrida, C=corpúsculos, T=tags de adhesivo, D=dentina sin reacción.





Discusión

Dado los resultados del análisis cuantitativo, se comprobó que el sustrato dentinario influye en la calidad de la adhesión obtenida, ya que hubo diferencias estadísticamente significativas entre la variables DIENTE (joven o adulto), GRUPO (control y experimental con Adper Prompt-L-Pop) y DENTINA (del conducto radicular y lateral)

Resultados de otros trabajos nos indican que la dentina esclerótica presenta dificultades a los sistemas adhesivos para lograr la formación de una capa híbrida. Sin embargo, la mayoría de los estudios son efectuados tomando en consideración la dentina esclerótica de defectos no cariosos cervicales, donde el estímulo para la génesis de esta esclerosis es desde el medio bucal o por causas funcionales resultando generalmente en una abfracción. Muchas veces la oclusión de los túbulos dentinarios es total y una capa amorfa de cristales cálcicos es depositada haciendo más difícil la desmineralización de la dentina subyacente, resultando en capa híbridas de menor espesor y tags de resina más cortos. Esto traería como consecuencia menor fuerza adhesiva de materiales resinosos adheridos a este sustrato.⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾

Sin embargo también está la teoría que existe la posibilidad que los túbulos no estén totalmente obliterados por minerales provenientes de la dentina

peritubular, sobre todo en etapas tempranas del proceso. Así, al estar levemente aumentada el área de dentina intertubular, el área de adhesión sería mayor.⁽⁷²⁾

Adicionalmente, un estudio investigó el efecto de la edad en la fase mineral de la dentina. Este reveló que los cristales minerales intertubulares fueron más pequeños en la dentina esclerótica y que los minerales depositados intratubulares fueron químicamente similares a los minerales intertubulares circundantes. Además, los granos intertubulares fueron de tamaño nanométrico. Estas observaciones apoyan la teoría de “disolución y reprecipitación” para la formación de dentina esclerótica.⁽⁷³⁾ Dado que los dientes extraídos por razones periodontales en este estudio presentaban grados variables de esclerosis en su porción radicular, es probable que los mayores grosores de capa híbrida encontrados en ellos en comparación a los dientes jóvenes se atribuyan a esta teoría. Además, la esclerosis fisiológica por la edad se va produciendo desde apical a coronal y desde el exterior al interior del diente. Es posible que este proceso no haya avanzado hasta llegar al conducto radicular en algunos casos, dado que la experimentación se realizó hasta el tercio medio, no abarcando la porción más apical de la pieza dentaria. Adicionalmente, algunos especímenes eran provenientes de pacientes menores de 50 años, donde el proceso de esclerosis pudo haber sido

temprano. Capas híbridas y tags de resina de similar longitud entre dentina sana y esclerótica también han sido reportados.⁽⁷⁴⁾

El hecho de encontrar capas híbridas de mayor grosor en dentina del conducto radicular se debe esencialmente a la dirección que presentan los túbulos dentinarios. Cuando estos se disponen perpendicularmente a la superficie externa, el adhesivo es capaz de penetrar en mayor profundidad hacia el interior. En cambio, al disponerse en forma paralela, los túbulos le presentan al adhesivo más barreras para su difusión. Al eliminar la fase mineral mediante acondicionamiento ácido, este debe atravesar toda la longitud de la dentina intertubular y/o enfrentar la dentina peri e intratubular de manera longitudinal, encontrándose con una estructura denominada *lámina limitans*, la cual es laminar/tubular, se encuentra dentro del túbulo rodeando al proceso odontoblástico, pero es independiente de este. Esta estructura actuaría como barrera que regula el intercambio de sustancias entre fluido dentinario y dentina intratubular. Además regularía el proceso de mineralización de la dentina intratubular, impidiendo la calcificación del proceso odontoblástico.⁽⁷⁵⁾

Así, estas barreras dispuestas longitudinalmente presentan mayor dificultad para la desmineralización y penetración del adhesivo por razones químico-estructurales. Sin embargo, las capas híbridas formadas fueron de menor

grosor pero muy regulares. La dirección de los túbulos intervendría significativamente en la adhesión: a) cuando los túbulos están seccionados transversalmente, el sustrato adhesivo participa parcialmente en los fenómenos de unión y b) cuando los túbulos están seccionados longitudinalmente, la totalidad del sustrato participa en los mecanismos de adhesión.⁽⁷⁶⁾

En otra investigación se estudió la influencia de la dirección de los túbulos dentinarios sobre la resistencia adhesiva de la dentina y determinaron que la resistencia tensional de los grupos con los túbulos dentinarios cortados en forma paralela a la interfaz de unión fue mayor que aquellas con túbulos cortados perpendicularmente.⁽⁷⁷⁾

La razón por la cual el adhesivo experimental Adper Prompt-L-Pop generó capas híbridas de menor grosor tiene relación con su composición química y la forma de acondicionar la matriz inorgánica dentinaria. Por ser un adhesivo de tipo autograbante, la acidez de su composición es inferior a la de un ácido utilizado en una técnica de grabado total. Como incorpora el barro dentinario a la zona de interdifusión resina-dentina, estos monómeros acídicos deben atravesar este barro para llegar a la dentina subyacente. Por si mismos son menos ácidos y además van elevando su pH a medida que este proceso ocurre.^(62, 78)

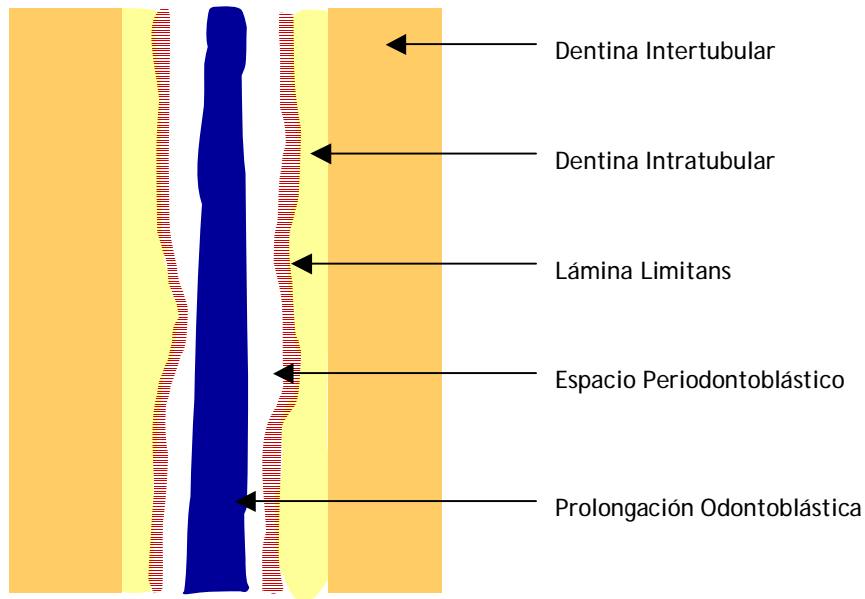
El adhesivo experimental usado en este estudio es considerado como agresivo en el sentido de que es uno de los autograbantes más ácidos en su composición con un pH inferior a 2. Este es capaz de disolver el barro dentinario, incorporarlo a la capa híbrida y penetrar en la dentina subyacente para desmineralizar e impregnar la dentina intertubular y formar tags de adhesivo. El grosor de esta capa es similar a las generadas mediante técnicas de grabado total, pero estas últimas son levemente mayores. ⁽³⁵⁾

A pesar de esto, ha sido de gran relevancia en este estudio comprobar la incorporación del barro dentinario a la capa híbrida mediante el uso de el adhesivo autograbante Adper Prompt-L-Pop, ya que como se puede apreciar en la figura 12a con tinción GBHA/fast green, la capa híbrida queda integrada con el barro, ya que la tinción específica de GBHA demuestra la presencia de iones calcio en esta, componente inorgánico esencial del barro dentinario.

La morfología de la interacción que tienen los adhesivos ocupados en este estudio con el sustrato dentinario también es un aspecto notable por la marcada diferencia que presentan.

Para poder indagar en las estructuras dentinarias que determinan estas diferencias es necesario conocer la morfología de un túbulo dentinario normal.

(ver esquema 2)



Esquema 2. Morfología de un túbulo dentinario

Al efectuar una técnica adhesiva, se acondiciona o graba la superficie de la dentina, desmineralizando la porción más superficial de la dentina intertubular, quedando la malla colágena expuesta. A su vez también se desmineraliza la dentina intratubular, quedando expuesto el componente orgánico de esta, principalmente representado por GAGs (glicosaminoglicanos).⁽⁷⁹⁾

Estas moléculas son altamente polianiónicas, ácidas e hidrofílicas, que unen partículas o moléculas dependiendo de su carga eléctrica. El adhesivo infiltra

esta malla colágena expuesta de la dentina intertubular. La dentina intratubular también es desmineralizada, quedando los GAGs expuestos al interior de los túbulos dentinarios. Un estudio realizado para demostrar si existía interacción entre un adhesivo monocomponente de “grabado y lavado” y los GAGs de la dentina intratubular, demostró que esta no ocurre, lo que hace que este adhesivo penetre sólo por el interior de la *lamina limitans*.⁽⁸⁰⁾

Estudios previos con microscopía electrónica, realizados en Proteoglicanos (PGs) aislados de cartílago y de membrana basal tumoral,⁽⁸¹⁻⁸³⁾ visualizados con el método de Kleinschmidt, entre otros, mostraron que los PGs se encuentran extendidos, con una organización estructural molecular, dada por el núcleo proteico con cadenas laterales de GAGs.⁽⁸⁴⁾

Numerosas investigaciones sugieren que los PGs se condensan durante el procesamiento de los tejidos, formando estructuras semicirculares, lo cual se supone es debido al colapso de las cadenas laterales de GAGs y el pliegue del núcleo proteico.^(81,82,85,86)

Si son utilizadas tinciones catiónicas antes, durante o después del proceso de fijación de la muestra, los PGs aparecen como pequeños gránulos electro-densos.^(79,84-87)

Si la lámina limitans está constituida por GAGs, es probable que esta

estructura sea el resultado del colapso y condensación de los GAGs intratubulares durante la técnica adhesiva y el procesamiento de las muestras.⁽⁷⁵⁾

Estudios anteriores demostraron la alta afinidad del condroitin sulfato por iones Ca^{2+} .^(87,88)

Además estudios hechos mediante microanálisis con rayos X y una técnica de tinción histoquímica específica para iones Ca^{2+} (GBHA), han podido confirmar la presencia de iones calcio en la interfase dentina-resina.⁽⁸⁹⁾

Estas observaciones podrían explicar lo encontrado en este estudio. A través de la reacción citoquímica por captura iónica, se detectaron pequeñas estructuras de formas corpusculares teñidas de rojo al interior de los túbulos dentinarios, rodeando los tags de resina. Estas estructuras de forma corpuscular corresponderían a las moléculas de condroitin-4-sulfato, presentes en el interior de los túbulos dentinarios, que luego de la técnica adhesiva y el procesamiento de las muestras, perderían su organización estructural molecular lineal, plegándose sobre si mismos y adquiriendo una forma semicircular.^(75,83,85,86)

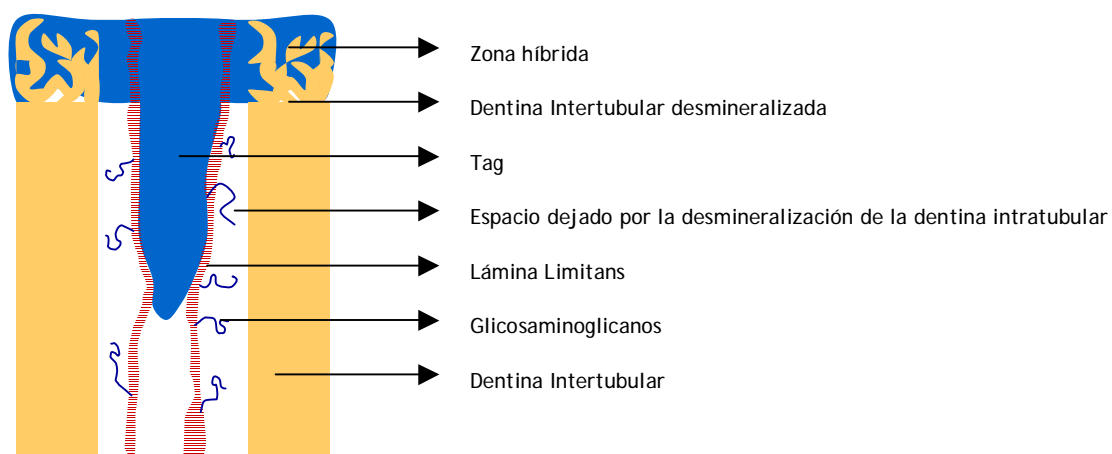
Como la tinción que se utilizó era específica para iones Ca^{2+} (GBHA) y estos iones (cargados positivamente), se unen a los GAGs intratubulares (altamente polianiónicos)⁽⁸⁷⁾, estos corpúsculos se ven de color rojo.^(68,88) Un hecho

importante de destacar, es que estas estructuras corpusculares se observaron sólo rodeando los tags de resina (al interior de los túbulos dentinarios) y en la capa híbrida en el caso del grupo control y dentro de los tags en el grupo experimental con el adhesivo Adper Prompt-L-Pop. En el caso de los iones presentes en la capa híbrida, esto podría suceder ya que con la aplicación del adhesivo y su posterior fotopolimerización, los iones Ca^{2+} quedarían incluidos en la resina, lo que no ocurre con el resto de los iones Ca^{2+} que se encuentran en la matriz dentinaria no hibridizada, puesto que son eliminados al desmineralizar totalmente las muestras con ácido fórmico al 10%, durante el procesamiento histológico. Algo similar acontece con los iones Ca^{2+} que quedan incluidos en la capa híbrida, dándole a ésta una coloración roja luego de la tinción con GBHA.^(68,89) Los probables orígenes de los iones Ca^{2+} en la zona híbrida y los tags de resina en el caso del grupo control serían: 1) iones en solución presentes en el fluido dentinario, 2) el agua utilizada para lavar la superficie luego del grabado ácido y 3) la hidroxiapatita intra o intertubular disuelta por el acondicionamiento dentinario.

El hecho que los iones Ca^{2+} saturan los sitios polianiónicos de los GAGs, al interior de los túbulos dentinarios, podría explicar que el adhesivo del grupo control (Adper Scotchbond), no interacciona con los GAGs intratubulares. Estos resultados fueron encontrados en el estudio antes mencionado, donde se vio

que no hubo interacción entre GAGs intratubulares y un adhesivo de “grabado y lavado” de 2 etapas clínicas. Además se concluyó que la lámina limitans actuaría como barrera para la difusión del adhesivo al interior del espacio intratubular, determinando la forma de los tags.⁽⁸⁰⁾

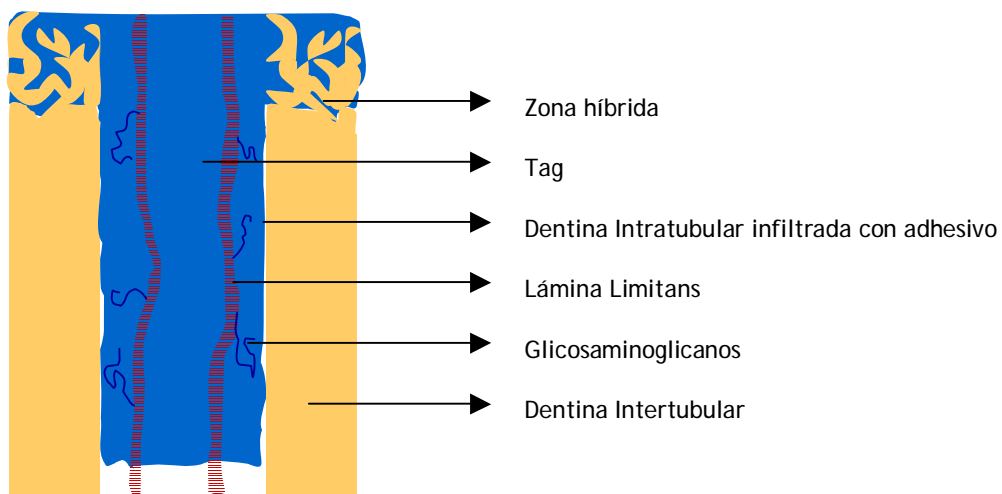
Así, podríamos inferir que la manera como interacciona el grupo control con la dentina es de la manera mostrada en el esquema 3.



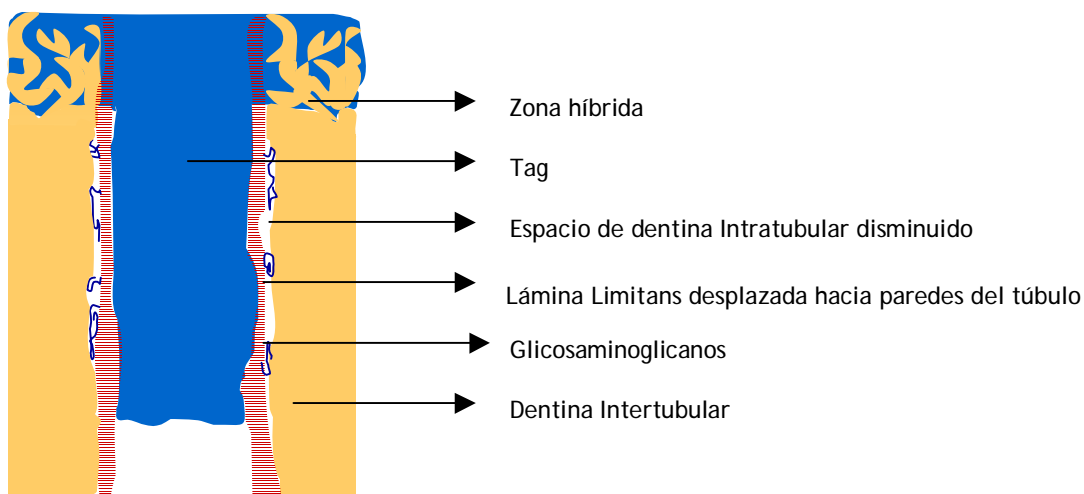
Esquema 3. Modelo de interacción propuesto para la interacción del adhesivo Adper Scotchbond con la dentina inter- e intratubular. El adhesivo no reacciona con los GAGs, por lo que difunde por el interior de la lámina limitans.

En el caso del adhesivo experimental Adper Prompt-L-Pop, los corpúsculos teñidos color rojo con la tinción GBHA se disponen dentro y alrededor de los

túbulos dentinarios. Además en los cortes transversales de túbulos dentinarios teñidos con azul de toluidina se aprecia la totalidad del lumen de los túbulos dentinarios infiltrado con adhesivo, o sólo la periferia de éstos, a diferencia del grupo control. Esto sugeriría otro tipo de interacción físico-química del adhesivo con los componentes del túbulo dentinario. Por un lado, es posible que este adhesivo autograbante actúe modificando la tensión superficial, con la cual difunde por capilaridad a través de los túbulos dentinarios. Por otro lado, es altamente probable que los GAGs intratubulares tengan relación en este proceso. Sin embargo, pruebas inmunohistoquímicas anti proteoglicanos son necesarias para probar esta aseveración. Los modelos teóricos propuestos de interacción adhesivo-dentina sería como los esquemas 4 ó 5.



Esquema 4. Primer modelo propuesto de interacción del adhesivo Adper Prompt-L-Pop y GAGs/dentina intratubular. El adhesivo infiltraría por el exterior y el interior de la lámina limitans, teniendo interacción con los GAGs intratubulares, ocupando todo el lumen del túbulo dentinario.



Esquema 5. Segundo modelo propuesto de interacción del adhesivo Adper Prompt-L-Pop y GAGs/dentina intratubular. Por las características físicas del material, este desplazaría la lámina limitans hacia las paredes de dentina intratubular, ocupando todo el lumen del túbulo dentinario.

Sin duda, este hecho marcaría un importante aspecto en relación a la calidad de adhesión lograda con este tipo de adhesivos en términos de una probable interacción química adicional dentina-adhesivo, con la consecuente mejora en el sellado y adhesión entre las dos estructuras. Este hecho sería de suma relevancia para la generación de nuevos biomateriales adhesivos.

Conclusiones

1. El sustrato dentinario influye en la morfología de la adhesión obtenida con el adhesivo Adper Prompt-L-Pop, generándose capas híbridas de mayor grosor en dientes adultos, donde los túbulos se disponen perpendiculares a la superficie.
2. El adhesivo de autograbado formó capas híbridas de menor grosor que las formadas por el grupo control, independientemente de la altura del diente donde se efectuó la técnica adhesiva.
3. La morfología de los tags en los túbulos dentinarios y de la capa híbrida se relacionaron con el tipo de adhesivo utilizado, ya que el adhesivo Adper Prompt-L-Pop retiene contenido mineral en la capa híbrida, o sea, integra el barro dentinario a la capa híbrida y los tags ocupan todo el lumen de los túbulos dentinarios. Sin embargo, bajo las limitaciones de este estudio, no es posible comprobar interacción química entre este adhesivo y la dentina.

Sugerencias

En este estudio se realizó un análisis *in vitro* descriptivo de la interfase adhesivo-dentina del adhesivo Adper-Prompt-L-Pop tomando como referencia al adhesivo Adper Scotchbond. Sin embargo tal análisis sería mucho más válido si estuviera apoyado por experiencias *in vivo*. Además sería un aporte que se analizara la resistencia inicial que tiene dicha unión con algún test como el de microtracción. (μ TBS test) Adicionalmente, ver el comportamiento de esta unión en el tiempo podría ayudar a predecir la durabilidad de tratamientos dentales que utilicen estas técnicas adhesivas específicas.

Por otro lado, dada la morfología de la interacción que presenta el adhesivo Adper Prompt-L-Pop con la dentina del conducto radicular, es necesario comprobar con inmunohistoquímica hasta qué nivel molecular llega dicha interacción, ya que supondría una gran ventaja el utilizar este adhesivo en dentina en comparación a otros.

Resumen

El objetivo de este estudio *in vitro* fue evaluar morfológicamente la interacción del adhesivo autograbante Adper Prompt-L-Pop con distintos sustratos dentinarios.

Para este efecto se efectuó un análisis cuantitativo y cualitativo de la capa híbrida formada por este adhesivo en 10 caninos extraídos por indicación ortodóncica en jóvenes y 10 dientes uniradiculados extraídos por razones periodontales de adultos. Se seccionó cada diente en 6 segmentos, 2 a nivel de la cámara pulpar, 2 a nivel del tercio cervical y 2 a nivel del tercio medio. A cada mitad por altura dentaria se le aplicó el adhesivo autograbante y a la otra se le aplicó el adhesivo Adper Scotchbond, muestras que sirvieron de grupo control en el mismo diente.

Los especímenes fueron procesados histológicamente. Cortes de 5 μ m fueron montados sobre porta-objetos y visualizados bajo microscopía óptica. Sobre imágenes estandarizadas de cada muestra se hizo el análisis cuantitativo y cualitativo de la capa híbrida y tags de adhesivo.

El análisis estadístico mostró diferencias significativas en la formación de capa híbrida. Las capas más gruesas se encontraron con el adhesivo del grupo control, en dientes adultos y en zonas donde los túbulos se dispusieron perpendicularmente a la superficie.

Cualitativamente, el grupo control mostró tags de longitud variable y menor que el espécimen experimental Adper Prompt-L-Pop, que ocupaban parcialmente el lumen de los túbulos y que terminaban en la forma clásica de “embudo”. En el caso del espécimen experimental se observó la integración del barro dentinario a la capa híbrida y tags de gran longitud que ocuparon todo el lumen del túbulo dentinario.

El análisis cualitativo hace pensar en la probabilidad de una interacción más íntima de carácter molecular entre el adhesivo experimental Adper Prompt-L-Pop y la dentina, hecho que favorecería su desempeño clínico *in vivo*.

Referencias

- (1) Nakabayashi N, Pashley D. "Hybridization of Dental Hard Tissues". Quintessence Publishing Co, Ltd. Chapter I "Evolution of Dentin-Resin Bonding" p. 1-17.
- (2) Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res 1955;34:849-853
- (3) Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissues. Chicago: Quintessence, 1998
- (4) Gartner L, Hiatt J. Histología texto y atlas. Cap. 16 : "Sistema digestivo I:cavidad oral". Edit McGraw-Hill, interamericana, 1997;p.322,323.
- (5) Vasiliadis L, Darling AI, Levers BG. The amount and distribution of sclerotic human root dentine. Arch Oral Biol 1983;28(7):645-9
- (6) Aasen SM. History of dentinal bonding. Esthet Dent Update 1990;1:43-46
- (7) Robbins JW. Fundamentals of operative dentistry - a contemporary approach. Quintessence Publishing Co. Inc, 2001, p. 546-66
- (8) Creugers NHJ, Mentink AJB, Kayser AF. An analysis of durability data on post and core restorations. J Dent 1993;21:281-4
- (9) Stockton LW. Factors affecting retention of post systems: a literature review. J Prosthet Dent 1999;81:380-5

- (10) Fox K, Gutteridge DL. An *in vitro* study of coronal microleakage in root canal treated teeth restored by the post and core technique. *Int Endod J* 1997;30, 361-368
- (11) Torbjöner A, Karlsson S, Odman PA. Survival rate and failure characteristics for two post designs. *J Prosthet Dent* 1995;73:439-44
- (12) Asmussen E, Peutzfeldt A, Heitmann T. Stiffness, elastic limit and strength of newer types of endodontic posts. *J Dent* 1999; 27:275-8
- (13) Ferrari M, Mannocci F, Vichi A, Cadigiaco MC, Mjor IA. Bonding to root canal: structural characteristics of the substrate. *Am J Dent* 2002;13:255-260)
- (14) Ferrari M, Vichi A, Mannocci F, Mason PN. Retrospective study of clinical behavior of several types of fiber posts. *Am J Dent* 2000;13:14B-9B
- (15) Bachicha WS, Di Fiore PM, Miller DA. Microleakage of endodontically treated teeth restored with posts. *J Endod* 1998;24:703-708
- (16) Barrancos J. "Operatoria Dental". Adhesión a estructura dentaria. 3ª edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires 1999, cap. 17, pág. 567-618
- (17) Bader M y cols. "Biomateriales Dentales". Cap. VI: Adhesión. 1ª Edición tomo I 1996, pág 49-62.

- (18) Pashley DH, Carvalho RM. Dentin permeability and dentin adhesion. *Journal of Dentistry* 1997;25:355-72
- (19) Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorensen SE. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. *J Dent Res* 1970;49(6):1359-68.
- (20) Charbeneau GT, Peyton FA, Anthony DH. Profile characteristics of cut tooth surfaces developed by rotating instruments. *J Dent Res* 1957:957-64
- (21) Pashley DH, Tao L, Boyd L, King GE, Horner JA. Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine. *Arch Oral Biol* 1988;33(4):265-70
- (22) Ayad MF, Rosenstiel SF, Hassan MM. Surface roughness of dentin after tooth preparation with different rotary instrumentation. *J Prosthet Dent* 1996;75(2):122-8
- (23) Tagami J, Tao L, Pashley DH, Hosoda H, Sano H. Effects of high speed cutting on dentin permeability and bonding. *Dent Mater* 1991;7(4):234-9
- (24) Wahle JJ, Wendt Jr SL. Dentinal surface roughness: a comparison of tooth preparation techniques. *J Prosthet Dent* 1993;69(2):160-4
- (25) McInnes PM, Wendt Jr SL, Retief DH, Weinberg R. Effect of dentin surface roughness on shear bond strength. *Dent Mater* 1990;6(3):204-7

- (26) Gilboe DB, Svare CW, Thayer KE, Drennon DG. Dentinal smearing: an investigation of the phenomenon. *J Prosthet Dent* 1980;44(3):310-16
- (27) Pashley DH, Michelich V, Kehl T. Dentin permeability and restorative dentistry: Effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent* 1981;46:531-37
- (28) Bränströmm M. Smear Layer. Pathological and treatment considerations. *Oper Dent* 1984;9(suppl 3):35-42
- (29) Swift Jr EJ, Perdigao J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art. *Quintessence Int* 1995;26(2):95-110
- (30) Chigira H, Yukitani W, Hasegawa T, Mannabe A, Itoh K, Hayakawa T, Debari K, Wakumoto S, Hisamitsu H. Self etching dentin primers containing Phenyl-P. *J Dent Res* 1994;73(5):1088-95
- (31) Miyasaki M, Tsubota K, et al. "Influence od Adhesive Application Duration on Dentin bond strength of single application Bonding Systems". *Operative Dentistry* 2002;27:278-283
- (32) Latta MA, Barkmeier WW. Dental adhesives in contemporary restorative dentistry. *Dent Clin North Am* 1998;42:567-577
- (33) Swift EJ, Bayne SC. Shear bond strength of a new one-bottle dentin adhesive. *Am J Dent* 1997;10:184-188
- (34) Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin bonding mechanism. *J Esthet Dent* 1991;3:133-138

- (35) Tay F, Pashley D. Agressiveness of contemporary self-etching systems. I. Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mat* 2001;17:296-308
- (36) Uribe-Echevarría J. Adhesión a esmalte y dentina con adhesivos poliméricos. Cap. 4, libro *Adhesión en odontología restauradora*, Henostroza (editor), editora Maio, Brasil, 2003, pág. 97
- (37) Pashley D, Tay F. Agressiveness of contemporary self-etching adhesives. II. Etching effects on unground enamel. *Dent Mat* 2001;17:430-444
- (38) Koibuchi H, Yasuda N, Nakabayashi N. Bonding to dentin with a self-etching primer: The effect of smear layers. *Dent Mat* 2001;17:122-126
- (39) Hayakawa T, Kikutake K, Nemoto K. Influence of self-etching primer treatment on the adhesion of resin composite to polished dentin and enamel. *Dent Mat* 1998;14:99-105
- (40) Hume WR. Influence of dentin on the pulpward release of eugenol or acids from restorative materials. *J Oral Rehab* 1994;21:469-473
- (41) Chan K, Tay FR, King NM, Imazato S, Pashley DH. Bonding of mild self-etching primers/adhesives to dentin with thick smear layers. *Am J Dent* 2003;16:340-346

- (42) Titley K, Caldwell R, Kulkarni G. Factors that affect the shear bond strength of multiple component and single bottle adhesives to dentin. *Am J Dent* 2003;16:120-124
- (43) Brännstrom M, Nordenwall KJ. The effect of acid etching on enamel, dentin and the inner surface of the resin restoration: a scanning electron microscopic investigation. *J Dent Res* 1977;56:917-923
- (44) Tagami J, Tao L, Pashley DH. Correlation among dentin depth, permeability and bond strength of adhesive resins. *Dent Mat* 1990;6:45-50
- (45) Chappell RP, Cobb CM, Spencer P, Eick JD. Dentinal tubule anastomosis: a potential factor in adhesive bonding. *J Prosthet Dent* 1994;72:183-188
- (46) Oliveira S, Pugach M, Hilton JF, Watanabe L, Marshall S, Marshall G. The influence of dentin smear layer on adhesion: a self etching primer vs. a total etch system. *Dent Mat* 2003;19:758-767
- (47) Carpena G, Carvalho P, Cardoso L, Baratieri LN. Microtensile bond strength to root canal vs. pulp chamber dentin: effect on bonding strategies. *J Adhes Dent* 2004;6:129-133
- (48) Mannocci F, Sherriff M, Ferrari M, Watson TF. Microtensile Bond strength and confocal microscopy of dental adhesives bonded to root canal dentin. *Am J Dent* 2001;14:200-204

- (49) De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: Method and results. *J Dent Res* 2005; 84(2):118-132
- (50) Perdigao J, Frankenberger R. Effect of solvent and rewetting time on dentin adhesion. *Quintessence Int* 2001;32:385-390
- (51) Frankenberger R, Kramer N, Petschelt A. Technique sensitivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bonding strength and marginal adaptation. *Oper Dent* 2000;25:324-330
- (52) Gordan VV, Vargas MA, Cobb DS, Denehy GE. Evaluation of adhesive systems using acidic primers. *Am J Dent* 1997;10:219-223
- (53) Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self etching primer. *J Dent Res* 1994;73:1212-1220
- (54) Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. *In vivo* degradation of resin-dentin bonds in humans over 1-3 years. *J Dent Res* 2000;79:1385-91
- (55) Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. The effect of the hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentine zone of the hybrid layer. *Dent Mat* 2000;16:406-411
- (56) Titley K, Chernecky R, Maric B, Smith D. Penetration of a dental bonding agent into dentin. *Am J Dent* 1994;7:190-194

- (57) Burrow MF, Satoh M, Tagami J. Dentin bond durability after three years using bonding agent with and without priming. *Dent Mat* 1996;12:302-307
- (58) Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentine adhesive systems. *J Dent Res* 1992;71:1530-1540
- (59) Frankenberger R, Perdigao J, Rosa BT, Lopes M. "No-bottle" vs. "Multi-bottle" dentin adhesives: A microtensile bond strength and morphological study. *Dent Mat* 2001;17:373-380
- (60) Inoue H, Inoue S, Uno S, Takahashi A, Koase K, Sano H. Microtensile Bond strength of two single-step adhesive systems to bur prepared dentin-Adhes *Dent* 2001;3:129-136
- (61) Lopes GC, Maia EAV, Vieira LCC, Da Soller S, Andrada MAC. Microtensile bond strength and SEM evaluation of three dentin bonding systems. *J Dent Res* 2002; 81(special issue):A327
- (62) Tay FR, Carvalho R, Sano H, Pashley H. Effect of smear layer on the bonding of a self etching primer to dentin. *J Adhes Dent* 2000;2:99-116.
- (63) Nunes MF, Swift Jr EJ, Perdigao J. Effect of demineralization depth on microtensile bond strength to human dentin. *J Adhes Dent* 2001;3:137-143.

- (64) Carrigan P, Morse D, Furst L, Sinai I. A scanning electron microscopic evaluation of human dentinal tubules according to age and location. *J Endod* 1984;10:359-63
- (65) Mjor IA, Nordahl I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. *Archs Oral Biol* 1996;41:401-412
- (66) Azaz B, Michaeli Y, Nitzan D. Aging of tissues of the roots of nonfunctional human teeth (impacted canines). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977;Apr;43(4):572-8
- (67) Vasiliadis L, Darling AI, Levers BG. The histology of sclerotic human root dentine. *Arch Oral Biol* 1983;28(8):693-700
- (68) Kashiwa HK, House CM Jr. The Glyoxal Bis(2-hydroxyanil) method modified for localizing insoluble calcium salts. *Stain Technol.* 1964 Nov;39:359-67
- (69) Kwong SM, Cheung GS, Kei LH, Itthagarun A, Smales RJ, Tay FR, Pasley DH. Microtensile bond strengths to sclerotic dentin using a self etching and a total etching technique. *Dent Mat* 2002 Jul;18(5):359-69
- (70) Van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Van Merle G. Morphological characterization of the interface between resin and sclerotic dentine. *J Dent* 1994 Jun; 22(3): 141-6
- (71) Prati C, Chersoni S, Mongiorgi R, Montanari G, Pashley DH. Thickness and

morphology of resin-infiltrated dentin layer in young, old and sclerotic dentin. *Oper Dent* 1999 Mar-Apr;24(2):66-72

- (72) Avery J. *Oral Development and Histology*. Second Edition. Thieme Medical Publishers Inc. New York, USA 1994
- (73) Porter AE, Nalla RK, Minor A, Jinschek JR, Kisielowski C, Radmilovic V, Kinney JH, Tomsia AP, Ritchie RO. A transmission electron microscopy study of mineralization in age-induced transparent dentin. *Biomaterials* 2005 Dec;26(36):7650-60
- (74) Zhou LS, Tan JG, Hu BH, Feng HL. Ultrastructural study of sclerotic dentin in non carious cervical lesions disposed by a total etching dentine adhesive. *Beijing da Xue Xue Bao* 2004; Jun 18; 36 (3):319-321.
- (75) Thomas HF. Lamina limitans of human dentinal tubules. *J Dent Res* 1984; 63(8):1064-66
- (76) Priotto E *et al*. Morphological and numerical characteristics of dentin tubules destined to adhesion. *J Dent Res* 1995; 74 : 734-38.
- (77) Ogata M *et al*. Influence of the direction of the tubules on bond strength of self etching primer bonding systems. *Oper Dent* 2001; 26 (1):27-35
- (78) Hayakawa T, Kikutake K, Nemoto K. Influence of self-etching primer treatment on the adhesion of resin composite to polished dentin and enamel. *Dent Mat* 1998;14:99-105

- (79) Oyarzún A., Rathkamp H, Dreyer E. Immunohistochemical and ultrastructural evaluation of the effects of phosphoric acid etching on dentin proteoglycans. *Eur J Oral Sci* 2000;108:546-554
- (80) Bahamondes JP, Cruzat F, Oyarzun A. Evaluación de la interacción de los adhesivos dentinarios con los glicosaminoglicanos intratubulares. Trabajo investigación para optar al título de cirujano dentista, Universidad de Chile 2004.
- (81) Hascall G. Cartilage proteoglycans: comparison of sectioned and spread whole molecules. *J Ultrastruct Res* 1980;70:369-375
- (82) Paulsson M, Yurchenco P, Ruben G, Engel J, Timpl R. Structure of low density heparan sulfate proteoglycan isolated from a mouse tumour basement membrane. *J Mol Biol* 1987;197:297-313
- (83) Laurie G, Inoue S, Bing J, Hassel J. Visualization of the large heparan sulfate proteoglycan from basement membrane. *Am J Anat* 1988;181:320-326
- (84) Oyarzun A. Ultracytochemical localization of basal lamina anionic sites in the rat epithelial attachment apparatus. *J Periodnt Res* 1992;27:256-263
- (85) Kagami A, Takagi M, Hiramama M, Sagami Y, Shimada T. Enhanced ultrastructural preservation of cartilage proteoglycans in the extended state. *J Histochem Cytochem* 1990;38:901-906

- (86) Hunziber E, Schenk R. Structural organization of proteoglycans in cartilage. In: Wight N, Mecham P, eds. *Biology of extracellular matrix: A series. Biology of proteoglycans*. Academic Press Inc 1987, 155-210
- (87) Yoshida N, Yoshida K, Iwaku M, Ozawa H. Immunolocalization of the small proteoglycan decorin in human teeth. *Archs Oral Biol* 1996;41(4):351-357.
- (88) Embery G, Rees S, Hall R, Rose K, Waddington R, Shellis P. Calcium- and hydroxyapatite-binding properties of glucuronic acid-rich glycosaminoglycans and proteoglycans. *Eur J Oral Sci* 1998;106 (suppl 1):267-273
- (89) Hanaizumi Y, Maeda T, Tacaño Y. Distribution of calcium ions at the interface between resin bonding materials and tooth dentin. Use of commercially available adhesive systems. *J Electron Microscopy* 1998;47(3):227-241.