



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA RESTAURADORA

**EFFECTO DEL GÉNERO DEL OPERADOR EN LA APLICACIÓN DE UN
ADHESIVO SOBRE LA CONDUCTANCIA HIDRÁULICA TRANSDENTINARIA EN
UN MODELO *IN VITRO*.**

Javiera Alejandra Tejos Harún

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL:
Prof. Dr. Eduardo Fernández Godoy

TUTORES ASOCIADOS:
Dra. Andrea Werner
Dra. Claudia Letelier

Adscrito a Proyecto de Investigación PRI n° 12-007

SANTIAGO - CHILE

2014



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA RESTAURADORA

**EFFECTO DEL GÉNERO DEL OPERADOR EN LA APLICACIÓN DE UN
ADHESIVO SOBRE LA CONDUCTANCIA HIDRÁULICA TRANSDENTINARIA EN
UN MODELO *IN VITRO*.**

Javiera Alejandra Tejos Harún

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL:
Prof. Dr. Eduardo Fernández Godoy

TUTORES ASOCIADOS:
Dra. Andrea Werner
Dra. Claudia Letelier

Adscrito a Proyecto de Investigación PRI n° 12-007

SANTIAGO - CHILE

2014

ÍNDICE	Página
Introducción.....	1
Marco Teórico.....	2
Hipótesis.....	12
Objetivos.....	13
Materiales y Métodos.....	15
Resultados	23
Discusión.....	33
Conclusiones.....	36
Referencias Bibliográficas.....	37
Anexos.....	44

RESUMEN

El objetivo del estudio fue comparar la conductancia hidráulica *in vitro* de discos de dentina humana en los que ha sido aplicado un adhesivo por operadores de género masculino y femenino.

Se recolectaron 75 terceros molares de donantes adultos sanos de entre 18 y 30 años de edad, con previa firma de un consentimiento informado. Estos debían estar sanos, libres de caries, con indicación de exodoncia.

Los molares fueron limpiados, desinfectados y conservados, para posteriormente ser incluidos en bloques de resina epóxica. Cada bloque fue cortado transversalmente en la zona coronal de cada diente, para así obtener 75 discos de dentina expuesta en ambas caras de éste, de 1mm +/- 0,1 mm de grosor.

Las muestras fueron divididas en 5 grupos de 15 discos cada uno. Uno de ellos, fue utilizado como control y no fue sometido a tratamiento adhesivo. Para los discos del grupo 1 y 2, el adhesivo fue aplicado por 15 operadores de género masculino; de forma pasiva en el grupo 1, y de forma vigorosa en el grupo 2. Para los discos de los grupos 3 y 4, el adhesivo fue aplicado por 15 operadores de género femenino; de forma pasiva para el grupo 3, y de forma vigorosa para el grupo 4.

Se realizó la medición de la tasa de flujo de las muestras, a través de una Cámara de Difusión y se determinó la conductancia hidráulica de cada una de ellas.

Los datos fueron tabulados y analizados estadísticamente mediante la prueba de los rangos con signo Wilcoxon y el coeficiente de correlación de Spearman.

Los resultados como medias para la conductancia hidráulica de cada grupo por separado fueron: Control (0,04331), 1 (0,01745), 2 (0,00353), 3 (0,01290), 4 (0,00522) expresados en $\mu\text{l}/\text{min}\times\text{cm}^2$.

Se pudo concluir que existe diferencia estadísticamente significativa en la conductancia hidráulica, entre el grupo control y los grupos 1, 2, 3 y 4. No existe diferencia estadísticamente significativa entre la aplicación realizada por un operador masculino y uno femenino. Se observó diferencia estadísticamente significativa de la conductancia hidráulica de las muestras que se les aplicó el adhesivo de forma pasiva con las de aplicación vigorosa. Además, se determinó

que existe una asociación fuerte entre la fuerza ejercida al aplicar el adhesivo con los valores de conductancia hidráulica dentinaria *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

La dentina, tejido mineralizado que forma parte de los dientes, es atravesado por un gran número de pequeños canales llamados túbulos dentinarios, los cuales nacen en la pulpa y terminan en el límite amelodentinario o en el cemento, conectando el tejido pulpar con la dentina. Es así como se genera una unidad funcional llamada complejo pulpo-dentinario, en la cual existe un activo intercambio de sustancias que le da la característica de ser permeable ⁽¹⁾.

La permeabilidad dentinaria se entiende como el paso de fluidos, iones, bacterias, y pequeñas partículas a través del tejido dentinario, bajo condiciones definidas ⁽²⁾.

Fenómenos como la hipersensibilidad dentaria se relacionan con la permeabilidad del complejo pulpo-dentinario. Esta se define como un dolor agudo y de corta duración originado en una zona del diente con exposición de dentina en respuesta a estímulos químicos, térmicos, táctiles u osmóticos y que no puede ser adscrita a ninguna otra forma de patología dental ⁽³⁾. Esto es explicado por Brännström en 1986, quien dice que los túbulos dentinarios presentan un movimiento de fluidos en su interior a causa de estímulos externos (como frío, calor, presión), movimiento que llega a receptores nerviosos anexados al complejo pulpodentinario que lo traducen en dolor. Esta teoría es conocida como la Teoría Hidrodinámica de la Sensibilidad ⁽⁴⁾.

Con el uso de materiales adhesivos en dentina, se ha comprobado que existe una reducción significativa en el movimiento de fluidos a través de la dentina ⁽⁵⁾. Estos adhesivos pueden causar una oclusión tubular en la superficie dentinaria, y así aliviar la sensibilidad ⁽⁶⁾.

Este estudio tiene por objetivo determinar si el género del operador que realiza la aplicación de un adhesivo afecta significativamente la permeabilidad de este tejido.

MARCO TEÓRICO

Dentina

La dentina, tejido mineralizado que forma parte de los dientes, está compuesta en un 50% del volumen total por una matriz inorgánica de hidroxapatita carbonatada, en un 30% por una matriz orgánica formada principalmente por colágeno tipo I, proteoglicanos y una pequeña cantidad de colágeno tipo V, y en un 20% de agua ⁽⁷⁾.

Este tejido está intrínsecamente hidratado por un laberinto de túbulos dentinarios llenos de fluido. El número de túbulos varía dependiendo de la profundidad de la dentina, y puede ir de los 45.000/mm² cuando el tejido es cercano a la pulpa, hasta los 20.000/mm² cuando es cercano al límite amelo dentinario (LAD) ⁽⁸⁾. Igualmente, el diámetro de los túbulos puede variar de 2,37µm próximo a la pulpa, a 0,63µm en la periferia ⁽⁹⁾. Los túbulos ocupan un área del 22% en el total de la superficie cercana a la pulpa, y solo un 1% de la superficie cercana al LAD ⁽¹⁰⁾, lo que significa que el contenido de agua en la dentina profunda es del 22%, en cambio en la dentina superficial es del 1% ⁽¹¹⁾.

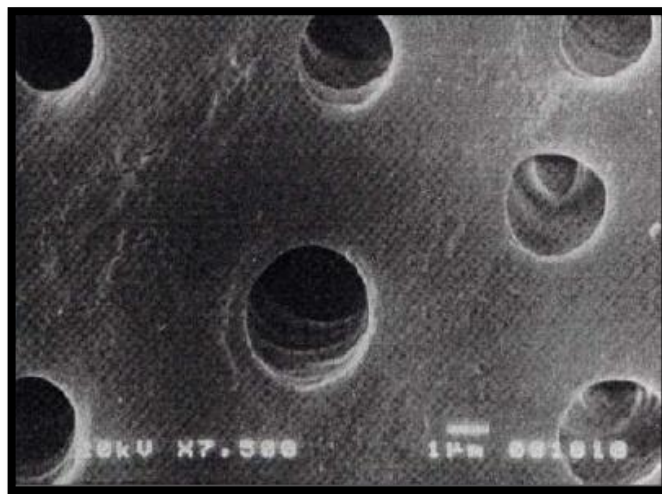


Fig. 1: Túbulos dentinarios ⁽²⁸⁾.

Dentro de estos túbulos podemos encontrar la prolongación de células pulpares llamadas odontoblastos, líquido tisular, fibras nerviosas y colágeno ⁽¹²⁾. Éstos

conectan el tejido pulpar con el tejido dentinario, generando una unidad funcional llamada complejo pulpo-dentinario, en el cual existe un activo intercambio de sustancias que le da la característica de ser permeable ⁽¹⁾.

El fluido dentinario corresponde a un ultra filtrado sanguíneo de los capilares sanguíneos. Si bien, tiene una composición muy similar a la del plasma, este fluido contiene hasta 3 veces más concentración de iones calcio, y sólo un 10% de proteínas plasmáticas ⁽¹³⁾. A esto, se le suma la presencia de anticuerpos u otras sustancias antimicrobianas, y excepcionalmente según la fisiopatología presente, puede presentar bacterias, eritrocitos, plaquetas, polimorfo nucleares neutrófilos y restos de odontoblastos disgregados ⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾.

La presencia de fluido en este tejido es determinante en la mantención de la estructura de la dentina, especialmente de la red colágena y su elasticidad ⁽¹⁷⁾. Además, el movimiento de partículas dentro de este fluido, cumple un rol esencial en los procesos de salud y enfermedad del complejo pulpodentinario ⁽¹⁸⁾.

Brännström propone que los estímulos como presión hidrostática, aire comprimido, calor, frío, presión negativa y presión osmótica generan el movimiento de fluido dentro de los túbulos, produciendo sensibilidad dentinaria ⁽¹⁹⁾. Este concepto es conocido como la teoría hidrodinámica de la sensibilidad ⁽⁴⁾.

En la actualidad, se acepta que los movimientos del fluido dentro de los túbulos dentinarios activan terminaciones nerviosas, lo que causaría dolor ⁽¹⁹⁾, por lo que el estudio de las variables que determinan estos movimientos podría apuntar a controlarlas y manejar la sintomatología. Es aquí donde el concepto de permeabilidad dentinaria adquiere gran importancia.

Permeabilidad dentinaria

La permeabilidad dentinaria se entiende como el paso de fluidos, iones, bacterias, y pequeñas partículas a través del tejido dentinario, bajo condiciones definidas ⁽²⁾.

Este paso de sustancias conlleva a una conexión entre el medio pulpar y el medio bucal, siendo vital en la biología y fisiopatología del complejo pulpodentinario ya que se puede vincular con la aparición de sensibilidad post-operatoria, recidiva de caries, microfiltración en márgenes de restauraciones, entre otras implicancias clínicas ⁽²⁾.

En este fenómeno de permeabilidad, hay involucrados procesos físicos que son necesarios de entender, ya que el comportamiento del flujo dentinario se ajusta a las ecuaciones de dinámica de fluidos.

Es así como nace la ecuación de Poiseuille, que establece los factores físicos que determinan el movimiento del fluido de la dentina ⁽²⁰⁾:

$$F_d = \frac{P \cdot r^4}{8 \cdot \eta \cdot l}$$

Donde F_d es el volumen de flujo que aparece en la superficie de la dentina, P es presión pulpar, η es viscosidad del fluido dentinario, l es longitud de los túbulos dentinarios, y r es el radio de los túbulos dentinarios.

Dada la complejidad de poder medir la longitud y el radio de los túbulos dentinarios, existe una ecuación más sencilla capaz de hacer medible el fenómeno de la permeabilidad. Esta es la ecuación de la Conductancia Hidráulica ⁽²⁰⁾.

$$Ch = \frac{F}{A \cdot P \cdot t}$$

Donde Ch es conductancia hidráulica, F es flujo de fluido que pasa a través de la dentina, A es área de la dentina a través de la cual se produce la filtración, P es presión hidrostática aplicada, y t es tiempo en minutos.

Factores que afectan la permeabilidad dentinaria.

Se ha determinado que existen variables que afectan la magnitud de la permeabilidad dentinaria. Pashley y colaboradores identificaron como factores que influyen en la permeabilidad dentinaria el grosor de la dentina, la proximidad de esta a la cámara pulpar, el área de la superficie expuesta, la temperatura, presencia o ausencia de barro dentinario, componente pulpar y el tamaño de partículas ⁽²¹⁻²⁵⁾.

Grosor

Se ha determinado que una dentina de mayor grosor genera una mayor resistencia al flujo, logrando además una mayor disipación de la concentración de fluido, lo que resulta en la disminución de la permeabilidad ⁽²⁶⁾.

Proximidad a cámara pulpar

En la dentina cercana a la pulpa podemos encontrar túbulos dentinarios aumentados en diámetro y cantidad, por lo que esta zona será más permeable que otras ⁽²⁶⁾.

Área superficial

La permeabilidad dentinaria es directamente proporcional al área superficial de los túbulos dentinarios al cual sometemos una diferencia de presión, y varía en diferentes sectores de un mismo diente, debido a factores que no son constantes, como el diámetro, densidad y bifurcaciones de los túbulos dentinarios ⁽²¹⁾. También pueden existir diferencias de permeabilidad por cambios en la estructura misma de la dentina, por procesos como la formación de dentina esclerótica ante injurias, lo que resulta en la obliteración de los túbulos, disminuyendo su área útil ⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾.

Presencia de barro dentinario

El barro dentinario se genera al realizar procesos en los que se desgasta el tejido dentario con algún tipo de instrumento rotatorio, y que al desprender partículas residuales que, en combinación con saliva o cualquier líquido presente, se depositan sobre o incluso dentro de los túbulos dentinarios, obliterándolos y disminuyendo su permeabilidad a valores incluso cercanos al cero ⁽²⁾⁽²⁹⁾.

Temperatura

Se ha determinado que el aumento de la temperatura aumenta la permeabilidad de la dentina ⁽²⁴⁾. Aumentar 10 grados Celsius la temperatura de la dentina, podría incluso duplicar la permeabilidad de la misma ⁽³⁰⁾, esto debido a que ocurre un aumento en el diámetro de los túbulos dentinarios, además de afectar la viscosidad del líquido que fluye a través de ellos ⁽²⁴⁾.

Componente pulpar

Habitualmente, son los odontoblastos las células responsables de generar resistencia intratubular al paso de fluidos. Al perderse la vitalidad pulpar, se destruyen los odontoblastos y con esto su prolongación que va dentro de los túbulos dentinarios, por lo que se vería afectada la permeabilidad ⁽²²⁾.

También, es posible encontrar otro tipo de células al interior de los túbulos que generan resistencia al paso de fluidos, como leucocitos polimorfonucleares, glóbulos rojos e incluso plaquetas ⁽¹⁵⁾.

Tamaño de las partículas

El tamaño de la partícula penetrante tiene gran implicancia en la permeabilidad dentinaria, así como también cualquier interacción de ésta con la dentina. Es así como se establece que a menor tamaño de las partículas, mayor es su paso a través de los túbulos dentinarios; además, es menor la probabilidad de obliterarlos ⁽²⁾.

Adhesión a dentina

El estudio de la permeabilidad dentinaria se ha enfocado principalmente al concepto de hipersensibilidad y al estudio de nuevos materiales adhesivos ⁽²⁶⁾.

La exposición de los túbulos dentinarios es inherente al proceso de preparación cavitaria, y estos actúan como canales que transmiten estímulos mecánicos, químicos y bacterianos hacia la pulpa. Los materiales adhesivos buscan ocluir los túbulos dentinarios para así bloquear los estímulos extrínsecos de manera mecánica, y con esto disminuir la sensibilidad ⁽³¹⁾.

La unión exitosa de los adhesivos dentales con la superficie dentinaria está conformada por la formación de una capa híbrida ⁽³²⁾ y por la penetración del adhesivo en la dentina formando *tags* de resina ⁽³³⁾⁽³⁴⁾. Se ha observado que las uniones más fuertes ocurren en áreas donde la densidad de túbulos es mayor, y se forman *tags* de resina más largos ⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾.

La formación de barro dentinario ejerce el rol de barrera, la cual se debe disolver o hacer permeable para que el monómero del adhesivo pueda tener contacto con la dentina ⁽³⁷⁾.

Los sistemas adhesivos autograbantes no realizan la remoción del barro dentinario, por lo que éste se incorpora a la capa híbrida adhesiva ⁽³⁸⁾ y disminuye el grado de penetración al interior de la dentina subyacente ⁽³⁹⁾.

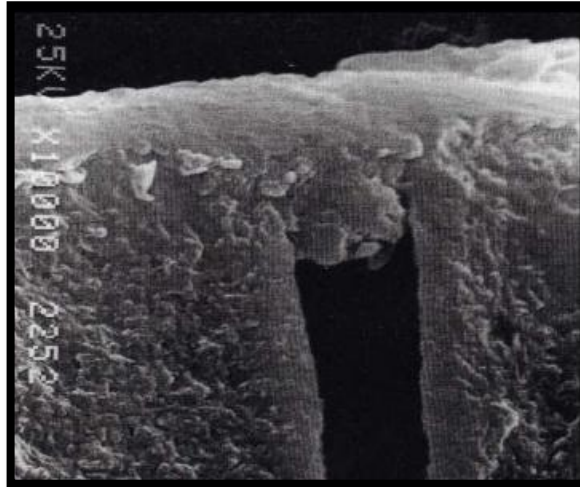


Fig. 2: Barro dentinario en la entrada de túbulo dentinario ⁽⁴⁰⁾.

Se ha visto que algunos adhesivos autograbantes presentan valores de fuerza de unión relativamente más bajos, y una adaptación marginal inferior, en esmalte y dentina, comparado con adhesivos de grabado total o selectivo ⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾.

Se ha demostrado que el grabado ácido de la cavidad antes de emplear el adhesivo autograbante, aumenta su fuerza de adhesión tanto en el esmalte como en la dentina, pese a que los fabricantes no recomiendan este paso ⁽⁴⁴⁾.

Estudios in vitro ⁽⁴⁵⁻⁴⁸⁾ e in vivo ⁽⁴⁹⁾ han reportado que la fuerza de unión de adhesivos autograbantes a dentina puede mejorar con la aplicación vigorosa de este.

Se ha sugerido que la aplicación activa de adhesivos autograbantes puede aumentar la disolución del barro dentinario, mejorando el engranaje micromecánico y la interacción química con la dentina ⁽⁵⁰⁾. Es probable que esto se deba a que el monómero ácido del adhesivo se deposita en el sector basal de la

dentina, lo que produciría una desmineralización más agresiva, facilitando la difusión del monómero al interior y del solvente hacia el exterior, promoviendo una mejor interacción con el barro dentinario ⁽¹¹⁾⁽⁵¹⁾.

La influencia del modo de aplicación sobre el grado de conversión de la capa de adhesivo ha sido estudiada. Hallazgos recientes han evidenciado el significativo rol de la aplicación activa en la mejora de propiedades mecánicas ⁽⁴⁷⁾⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾ y de la unión entre resina y dentina ⁽⁴⁸⁾.

Estudios muestran que la aplicación activa puede mejorar el grado de conversión de la capa de adhesivo, lo que se ha asociado en gran medida con el aumento de interacción química del monómero ácido del adhesivo con la hidroxiapatita de la dentina ⁽⁵³⁾.

La interacción química podría proveer de un efecto buffer al monómero ácido, mientras que de otro modo se consume más iniciador lo que compromete la eficacia de la fotopolimerización ^{(54) (55)}.

3M ESPE Single Bond Universal Adhesive®

Es un adhesivo dental que puede ser utilizado como sistema de autograbado, grabado selectivo o grabado total, ya que es compatible con ácido fosfórico, utilizado en estos dos últimos métodos ⁽⁵⁶⁾.

Su composición consta de ⁽⁵⁶⁾:

- MDP (Metacriloxidecildihidrogenofosfato).
- Dimetracrilatos.
- HEMA.
- Copolímero Vitrebond™.
- Relleno.
- Etanol.
- Agua.

- Iniciador.
- Silano.

Antes de la fotopolimerización y durante la aplicación, Single Bond Universal® es hidrofílico, proporcionando una óptima humectación del tejido dentario. Luego de secar y polimerizar, el adhesivo muestra un alto grado de conversión, volviéndose hidrofóbico, lo que genera un enlace de mayor duración ⁽⁵⁶⁾.



Fig. 3: 3M ESPE Single Bond Universal®.

Para los sistemas de grabado total, el grabado ácido se utiliza para modificar la superficie de dentina y esmalte, para permitir la penetración del adhesivo y así conseguir una unión mecánica. El ácido fosfórico es un ácido bastante efectivo disolviendo el barro dentinario y los minerales que se encuentran dentro de la matriz colágena de la dentina, lo que resulta en la exposición de túbulos dentinarios. A partir de esto, se debe asegurar un completo sellado tubular para prevenir sensibilidad dentaria, y el colágeno desmineralizado debe mantenerse húmedo para evitar su colapso, con la subsecuente disminución de la fuerza de unión ⁽⁵⁶⁾.

Single Bond Universal® provee una alta adhesión para el sellado de la dentina al ser usado como autograbante o como grabado total. Es así como bloquea túbulos dentinarios abiertos, protegiendo de una potencial hipersensibilidad e incluso otorga alivio a pacientes sintomáticos ⁽⁵⁶⁾.

Dimorfismo entre género masculino y femenino

La especie humana, al igual que muchos animales, presenta grandes diferencias entre individuos de género masculino y femenino. Estas son evidentes desde la vida intrauterina, pero se comienzan a acrecentar en la pubertad mediante la acción de hormonas sexuales, hasta resultar en hombres y mujeres adultos con distinta composición y distribución de tejidos en el cuerpo.

Individuos de sexo masculino tienden a ser 7% más grandes que los de sexo femenino ⁽⁵⁷⁾. Tienen forma de triángulo invertido, anchos hombros y cintura estrecha, mientras que en las mujeres se puede observar que predomina la forma de reloj de arena ^{(58) (59)}.

Hombres poseen mayores cantidades de masa magra que mujeres, y esto ocurre particularmente en los brazos ⁽⁶⁰⁾. Es por esto que se puede inferir que individuos de sexo masculino pueden ejercer mayor fuerza al desempeñar cualquier labor, tal como aplicar un adhesivo dental.

HIPÓTESIS

Hipótesis nula: No existen diferencias entre hombres y mujeres al aplicar un adhesivo, sobre la conductancia hidráulica transdientinaria en un modelo *in vitro*.

Hipótesis alternativa: Existen diferencias entre hombres y mujeres al aplicar un adhesivo, sobre la conductancia hidráulica transdientinaria en un modelo *in vitro*.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Determinar si el género del operador en la aplicación de un adhesivo influye sobre la conductancia hidráulica transdentaria en un modelo *in vitro*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Determinar la conductancia hidráulica *in vitro* de discos de dentina grabados con ácido ortofosfórico al 37%.
- Determinar la conductancia hidráulica *in vitro* de discos de dentina tratados con adhesivo aplicado por un operador de género masculino y de forma pasiva.
- Determinar la conductancia hidráulica *in vitro* de discos de dentina tratados con adhesivo aplicado por un operador de género masculino y de forma vigorosa.
- Determinar la conductancia hidráulica *in vitro* de discos de dentina tratados con adhesivo aplicado por un operador de género femenino y de forma pasiva.
- Determinar la conductancia hidráulica *in vitro* de discos de dentina tratados con adhesivo aplicado por un operador de género femenino y de forma vigorosa.
- Determinar la fuerza ejercida por cada operador sobre cada disco de dentina al aplicar el adhesivo.
- Comparar los valores de conductancia hidráulica *in vitro* de discos de dentina tratados con adhesivo aplicado por operadores de género masculino y femenino.

- Comparar los valores de conductancia hidráulica *in vitro* de discos de dentina tratados con adhesivo aplicado pasiva y vigorosamente.
- Determinar si existe relación entre la fuerza ejercida al aplicar el adhesivo con los valores de conductancia hidráulica dentinaria *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

- 75 terceros molares humanos (obtenidos bajo criterios de inclusión)
- Solución de Timol al 0,1%.
- Curetas Gracey 13-14, HuFriedy® USA.
- Suero fisiológico (0,9%).
- Moldes de silicona.
- Vaselina.
- Resina Epóxica (Bosh®, fabricada en Corea)
- Ácido Ortofosfórico al 37%(3M™ ESPE™ Scotchbond™ Etchant Gel, 9 ml)
- Cronómetro digital (HS-12 Nahita)
- Cianocrilato (Ceys® Super Ceys Pincel)
- Recortadora Isomet Buehler Ler Lakebuff IL, USA 1000.
- Papel abrasivo (Silicon Paper N° 80 y 600, SIA, Switzerland)
- Calibrador (Medimax International)
- Agua destilada.
- Micro pinceles SDI.
- Balanza digital de precisión RADWAG WT2000®.
- Lámpara de fotocurado 3M Espe Elipar 2500.
- Adhesivo 3M ESPE Single Bond Universal® 5 ml.

- Cámara de difusión (según modelo dispuesto por Pashley y cols.).
- Programa computacional ImageJ 1.45 y SPSS 15.0 para Windows.

Metodología

El estudio que se llevó a cabo fue un estudio *in vitro* de tipo observacional.

Se estudió la conductancia hidráulica de 75 terceros molares humanos superiores e inferiores, libres de caries, con indicación de exodoncia, de pacientes adultos sanos, los cuales donaron sus molares habiendo firmado previamente un consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. (Anexo 1)

Los dientes luego de su extracción fueron desinfectados con solución de Timol 0,1% durante 24 horas, y luego fueron limpiados con curetas (Gracey 13-14 HuFriedy® USA) para así eliminar todos los restos de ligamento periodontal. Posteriormente se almacenaron en suero fisiológico a temperatura ambiente, el que fue renovado cada 7 días hasta el momento de utilizar los molares.

Al retirar los molares del medio de conservación, se procedió a realizar un grabado con ácido ortofosfórico al 37% (3M™ ESPE™ Scotchbond™ Etchant Gel) por 30 segundos sobre la superficie coronal de cada diente, que posteriormente fueron lavados, secados y pincelados con cianocrilato (Ceys® Super Ceys Pincel). Luego cada molar fue incluido en un cilindro de silicona envaselinado de 25 mm de diámetro, con su cara oclusal hacia la base, y su eje mayor paralelo al eje del cilindro. Inmediatamente se realizó el vaciado de resina epóxica (Bosh®, fabricada en Corea), la que se dejó polimerizar por 48 hrs según indicación del fabricante. Posteriormente los bloques de resina fueron retirados de los moldes, y así se obtuvo cilindros de 25mm de diámetro con un molar incluido en cada uno de ellos.



Fig. 4: Cilindro de resina epóxica con tercer molar incluido.

Se realizaron cortes perpendiculares al eje mayor de los bloques de resina para obtener discos de dentina de 1mm +/- 0,1mm de grosor, que incluyeron el tejido dentinario ubicado entre el esmalte y los cuernos pulpares de cada molar. Para esto se utilizó la recortadora Isomet Buehler Ler Lakebuff IL, USA 1000 a 700 rpm (Fig. 5), con 500 grs de presión y bajo abundante refrigeración.



Fig. 5: Recortadora Isomet Buehler Ler Lakebuff IL, USA 1000.

Con papel abrasivo (Silicon Paper N°80, SIA, Switzerland) y bajo agua circulante se eliminó esmalte residual de la cara oclusal de los discos que lo presentasen.

Luego, con papel abrasivo (Silicon Paper N°600, SIA, Switzerland) y bajo agua circulante se regularizaron las caras oclusales y pulpares de cada disco, para estandarizar grosores y obtener un alisado superficial. Posteriormente, se procedió a tratar ambas caras de cada disco con ácido ortofosfórico al 37% (3M™ ESPE™ Scotchbond™ Etchant Gel) por 15 segundos para eliminar el barro dentinario, los que luego fueron lavados con agua durante 30 segundos por cada cara. Los procedimientos anteriormente descritos fueron realizados por un operador único.

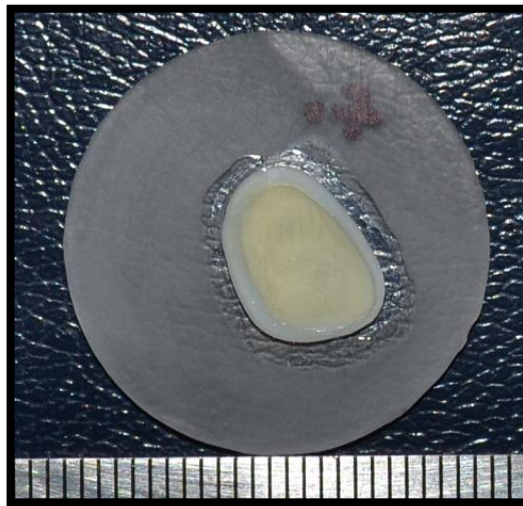


Fig. 6: Disco de dentina.

Se obtuvieron 75 discos de dentina de un grosor de 1mm +/- 0,1mm, los cuales fueron enumerados correlativamente, randomizados y divididos en 5 grupos de 15 muestras cada uno.

Grupo Control: discos sin tratamiento adhesivo.

Grupo A: operador género masculino y aplicación pasiva de adhesivo.

Grupo B: operador género masculino y aplicación vigorosa de adhesivo.

Grupo C: operador género femenino y aplicación pasiva de adhesivo.

Grupo D: operador género femenino y aplicación vigorosa de adhesivo.

Los discos fueron almacenados en agua destilada hasta el momento de su uso.

Se utilizó el adhesivo Single Bond Universal® de 3M ESPE el que fue aplicado por 15 operadores masculinos y 15 operadores femeninos. Cada operador aplicó el adhesivo sobre la cara oclusal de dos discos de dentina; en uno de forma pasiva, en el otro de forma vigorosa. Para esto, cada operador dispuso de un microbrush para hacer la aplicación pasiva del adhesivo, y otro microbrush para hacer la aplicación vigorosa del adhesivo. Se aplicaron dos capas de adhesivo por disco, cada una fue frotada sobre la dentina durante 20 segundos. Entre capas se procedió a soplar levemente durante 5 segundos a 10 cm de distancia, al igual que al terminar la aplicación de cada disco, para luego foto polimerizar con lámpara de fotocurado 3M Espe Elipar 2500 (900 mW/cm^2) por 20 segundos. Las aplicaciones se realizaron sobre la balanza digital de precisión RADWAG WT2000® (Fig.7) la que registró en gramos la fuerza ejercida por cada operador sobre cada disco. La aplicación del adhesivo se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante y en instantes previos a la medición en la cámara de difusión.



Fig. 7: Balanza digital de precisión RADWAG WT2000®.

Las mediciones de flujo de cada disco se realizaron con un modelo experimental (Cámara de difusión, Fig. 8), el cual es una modificación al dispuesto por Pashley y colaboradores ⁽²⁴⁾. Este modelo se confeccionó con un reservorio de agua destilada, en una columna vertical de agua de 200 mm, conectada a una llave de paso. Luego, por medio de un tubo de silicona, se conectó a un tubo capilar

milimetrado en posición horizontal, al cual se le incorporó una burbuja de aire que funcionó como guía de visualización y posterior medición. El capilar se conectó por el otro extremo mediante un cilindro de silicona a una cámara en donde se fijaron los discos en estudio, y fueron sellados con anillos de silicona.

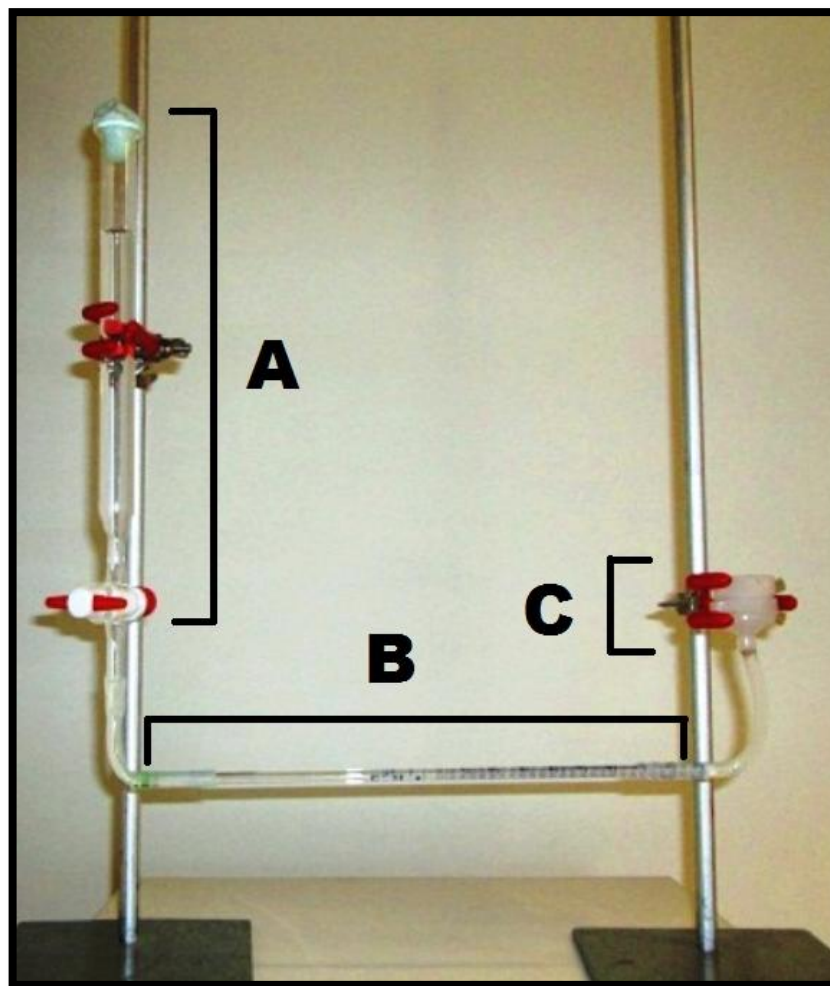


Fig. 8: Cámara de difusión. A. Columna de Agua destilada (200 mm); B. Capilar calibrado a 0.001 ml; C. Portafiltro con muestras en su interior.

La tasa de flujo del fluido a través de los discos de dentina fue medida registrando la posición inicial de la burbuja de aire dentro del capilar, luego de transcurridos 20 minutos, se consignó su posición final.

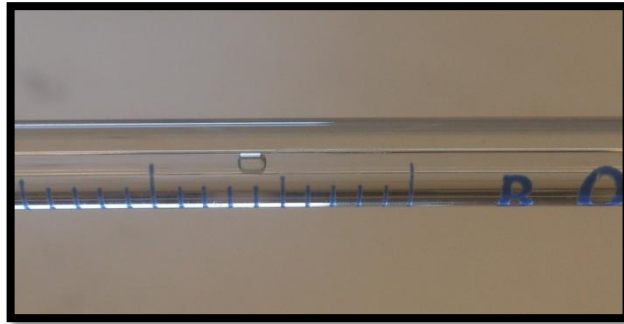


Fig. 9: Burbuja de aire dentro del capilar.

El área de dentina expuesta por disco, fue calculada por el programa computacional ImageJ, de amplio uso en medicina ⁽⁶¹⁾. Este permite establecer manualmente, por medio del manejo computacional de la imagen, un área seleccionada; en este caso el área dentinaria expuesta de cada uno de los discos. Para esto, se fotografió cada una de las muestras junto a una regla milimetrada.

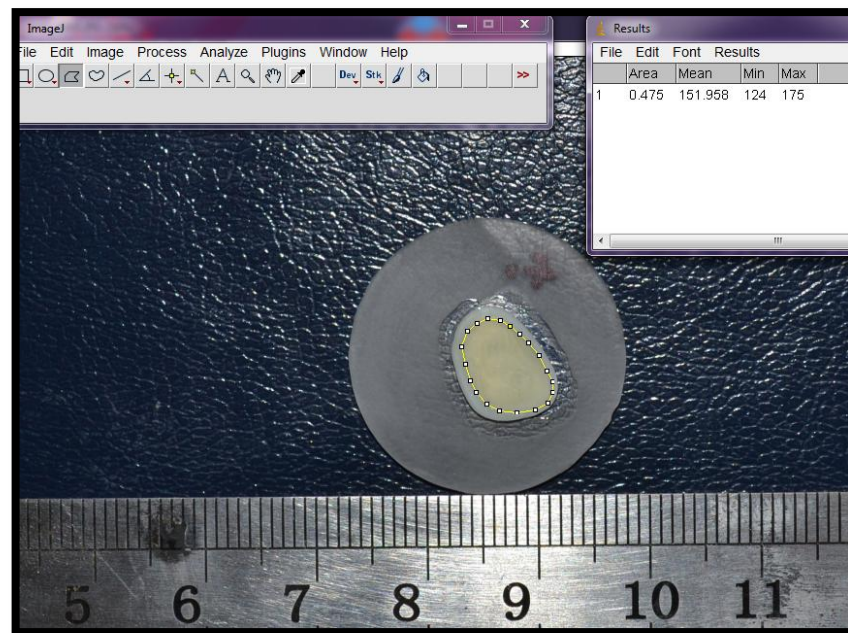


Fig. 10: Cálculo de área de dentina, utilizando el programa ImageJ.

Una vez obtenidas la tasa de flujo y el área de dentina de cada disco, se procedió a calcular la conductancia hidráulica mediante la siguiente fórmula ⁽⁶²⁾:

$$Ch = \frac{F}{P (SA)}$$

Donde Ch es conductancia hidráulica de la dentina en $\mu\text{l}/\text{min}\times\text{cm}^2$ (cm H₂O), F es la tasa de flujo de cada grupo experimental en $\mu\text{l}/\text{min}$, P es la diferencia de presión hidrostática a través de la dentina, que corresponde a la altura de la columna de agua destilada (200 mm), y SA es el área de superficie de dentina expuesta al fluido en cm^2 .

El análisis estadístico se realizó por medio del programa computacional SPSS 15.0 para Windows y las pruebas estadísticas de Shapiro-Wilk, prueba de los rangos con signo Wilcoxon y el coeficiente de correlación de Spearman.

La prueba de Shapiro-Wilk se utilizó para contrastar la normalidad de los grupos de datos de las variables conductancia hidráulica y fuerza en gramos ejercida sobre el disco al aplicar el adhesivo. Los resultados no se distribuían de manera normal, por lo que se debió utilizar estadística no paramétrica. La prueba de los rangos con signo Wilcoxon es un método no paramétrico utilizado para comparar la media de dos muestras relacionadas y determinar si existen diferencias entre ellas. El coeficiente de correlación de Spearman ρ (rho), se aplica a variables aleatorias continuas, y se utiliza para determinar el grado de correlación (la asociación o interdependencia) entre las dos variables.

RESULTADOS

Del total de 75 terceros molares recolectados para este estudio, se obtuvieron 75 discos de dentina de 1 mm +/- 0,1 mm de grosor. Estas muestras fueron randomizadas y divididas en 5 grupos de la siguiente manera:

- Grupo control: 15 discos sin tratamiento adhesivo.
- Grupo 1: 15 discos a los cuales se les aplicó adhesivo por un operador masculino y de forma pasiva.
- Grupo 2: 15 discos a los cuales se les aplicó adhesivo por un operador masculino y de forma vigorosa.
- Grupo 3: 15 discos a los cuales se les aplicó adhesivo de por un operador femenino y forma pasiva.
- Grupo 4: 15 discos a los cuales se les aplicó adhesivo por un operador femenino y de forma vigorosa.

En la tabla 1, se muestran los valores obtenidos del área de dentina de cada disco, mediante el programa ImageJ.

Tabla 1. Área dentinaria de cada disco, expresada en cm².

Control		Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4	
Disco	Área	Disco	Área	Disco	Área	Disco	Área	Disco	Área
1	0,607	4	0,477	31	0,438	8	0,703	29	0,561
2	0,294	10	0,528	57	0,544	27	0,528	21	0,521
3	0,495	2	0,479	23	0,71	17	0,502	38	0,527
4	0,459	35	0,481	7	0,465	9	0,714	24	0,607
5	0,451	56	0,508	3	0,402	37	0,759	50	0,532
6	0,526	51	0,569	12	0,61	59	0,833	13	0,582
7	0,791	19	0,441	44	0,48	28	0,677	36	0,472
8	0,500	53	0,619	45	0,678	54	0,428	34	0,601
9	0,730	43	0,493	20	0,668	15	0,451	14	0,357
10	0,730	60	0,432	18	0,837	58	0,71	33	0,612
11	0,373	26	0,731	47	0,353	41	0,509	5	0,375
12	0,341	1	0,656	22	0,733	39	0,721	49	0,376
13	0,593	48	0,61	52	0,478	6	0,332	16	0,634
14	0,571	32	0,744	55	0,503	25	0,453	11	0,505
15	0,587	40	0,444	42	0,315	46	0,48	30	0,626
Media	0,537	Media	0,547	Media	0,548	Media	0,587	Media	0,526

En la tabla 2, se exponen los valores calculados para la tasa de flujo de los discos de dentina de cada grupo, en $\mu\text{l}/\text{min}$.

Tabla 2. Tasa de flujo en $\mu\text{l}/\text{min}$ de cada disco de dentina.

Control		Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4	
Disco	Flujo	Disco	Flujo	Disco	Flujo	Disco	Flujo	Disco	Flujo
1	0,450	4	0,05	31	0,05	8	0,1	29	0,1
2	0,300	10	0,25	57	0,05	27	0,225	21	0,1
3	0,350	2	0,25	23	0,025	17	0,1	38	0,025
4	0,200	35	0,5	7	0,05	9	0,25	24	0,025
5	0,450	56	0,1	3	0,05	37	0,25	50	0,1
6	0,900	51	0,4	12	0,025	59	0,1	13	0,025
7	0,300	19	0,15	44	0,025	28	0,25	36	0,025
8	0,600	53	0,075	45	0,025	54	0,05	34	0,025
9	0,550	43	0,125	20	0,025	15	0,05	14	0,025
10	0,700	60	0,075	18	0,075	58	0,2	33	0,025
11	0,550	26	0,15	47	0,025	41	0,05	5	0,025
12	0,450	1	0,05	22	0,025	39	0,075	49	0,5
13	0,300	48	0,075	52	0,025	6	0,05	16	0,025
14	0,250	32	0,1	55	0,05	25	0,1	11	0,05
15	0,150	40	0,35	42	0,025	46	0,3	30	0,125
Media	0,433	Media	0,18	Media	0,037	Media	0,143	Media	0,08

En la tabla 3, se observan los valores de conductancia hidráulica para cada disco de dentina, calculada una vez obtenidos el área de dentina y tasa de flujo para cada muestra.

Tabla 3. Conductancia hidráulica (C.H.) de cada disco de dentina, expresada en $\mu\text{l}/\text{min}\times\text{cm}^2$.

Control		Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4	
Disco	C.H.	Disco	C.H.	Disco	C.H.	Disco	C.H.	Disco	C.H.
1	0,0371	4	0,00524	31	0,00538	8	0,00711	29	0,00891
2	0,0510	10	0,02367	57	0,0046	27	0,02131	21	0,0096
3	0,0354	2	0,0261	23	0,00176	17	0,02131	38	0,00237
4	0,0218	35	0,05198	7	0,00538	9	0,01751	24	0,00206
5	0,0499	56	0,00984	3	0,00622	37	0,01647	50	0,0094
6	0,0856	51	0,03515	12	0,00205	59	0,006	13	0,00215
7	0,0190	19	0,01701	44	0,0026	28	0,01846	36	0,00265
8	0,0600	53	0,00606	45	0,00184	54	0,00584	34	0,00208
9	0,0377	43	0,01268	20	0,00187	15	0,00554	14	0,0035
10	0,0480	60	0,00868	18	0,00448	58	0,01408	33	0,00204
11	0,0737	26	0,01026	47	0,00354	41	0,00491	5	0,00333
12	0,0660	1	0,00381	22	0,00171	39	0,0052	49	0,0133
13	0,0253	48	0,00615	52	0,00262	6	0,00753	16	0,00197
14	0,0210	32	0,00571	55	0,00497	25	0,01104	11	0,00495
15	0,0128	40	0,03941	42	0,00396	46	0,03125	30	0,00998
Media	0,0430	Media	0,01745	Media	0,00353	Media	0,01290	Media	0,00522

En la tabla 4 se observa la fuerza en gramos que fue ejercida sobre cada disco de dentina al aplicar el adhesivo.

Tabla 4. Fuerza aplicada en gramos.

Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4	
Disco	Fuerza gr	Disco	Fuerza gr	Disco	Fuerza gr	Disco	Fuerza gr
4	8	31	100	8	15	29	112
10	1	57	126	27	2,5	21	128
2	2,6	23	128	17	8	38	135
35	3,2	7	50	9	18	24	90
56	2,2	3	75	37	4	50	60
51	2,5	12	65	59	1	13	63
19	6	44	147	28	2,8	36	97
53	6,5	45	142	54	5	34	133
43	7	20	110	15	7	14	110
60	6,5	18	108	58	2	33	70
26	1	47	60	41	10	5	60
1	18	22	100	39	7	49	70
48	10	52	107	6	6	16	76
32	2	55	250	25	1	11	130
40	1	42	60	46	5	30	110
Media	5,17	Media	108,53	Media	6,29	Media	96,27

Gráfico 1. Conductancia hidráulica de grupo control y grupos experimentales en $\mu\text{l}/\text{min}\times\text{cm}^2$

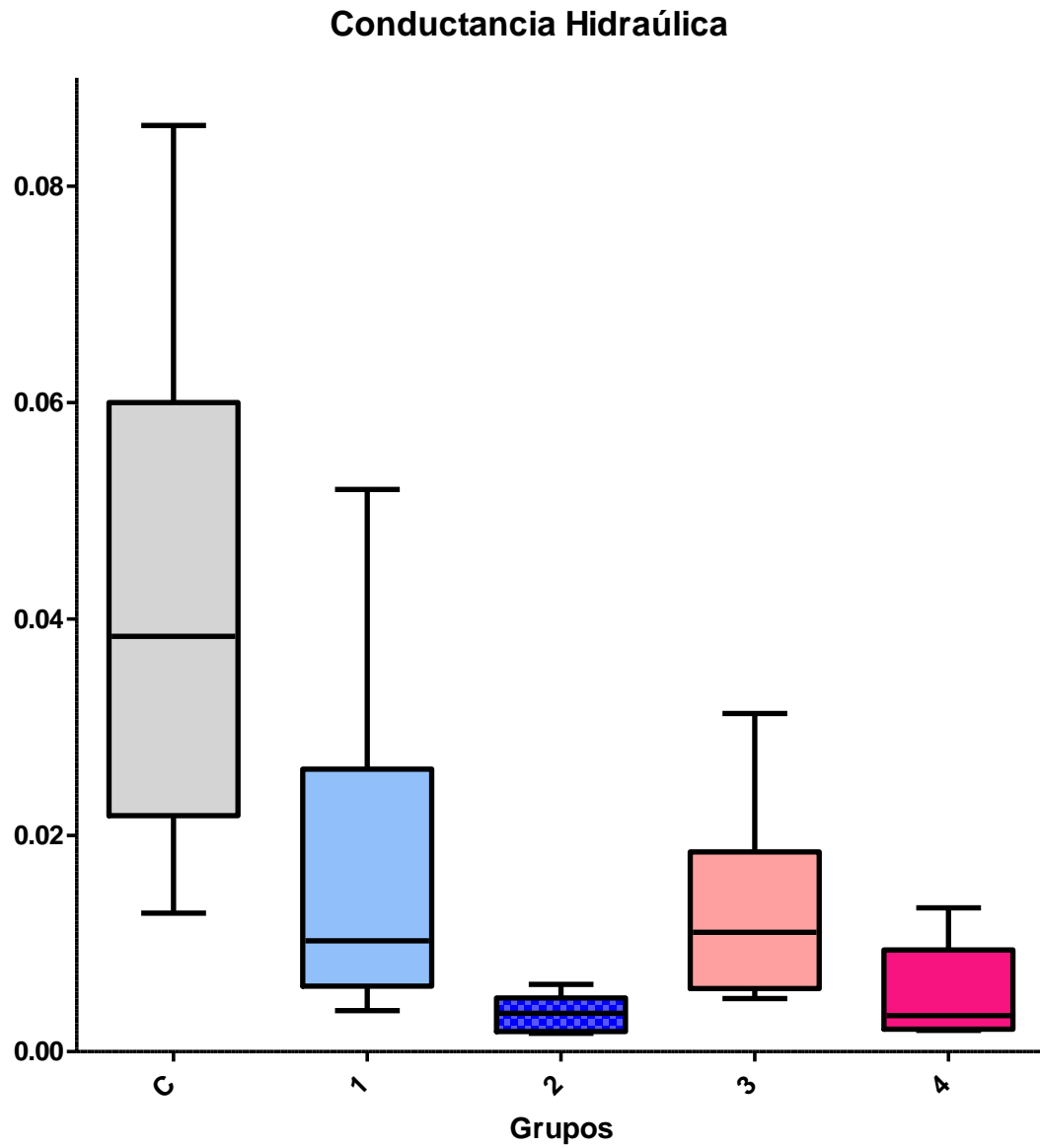


Grafico 2. Fuerza ejercida sobre grupos experimentales al aplicar el adhesivo.

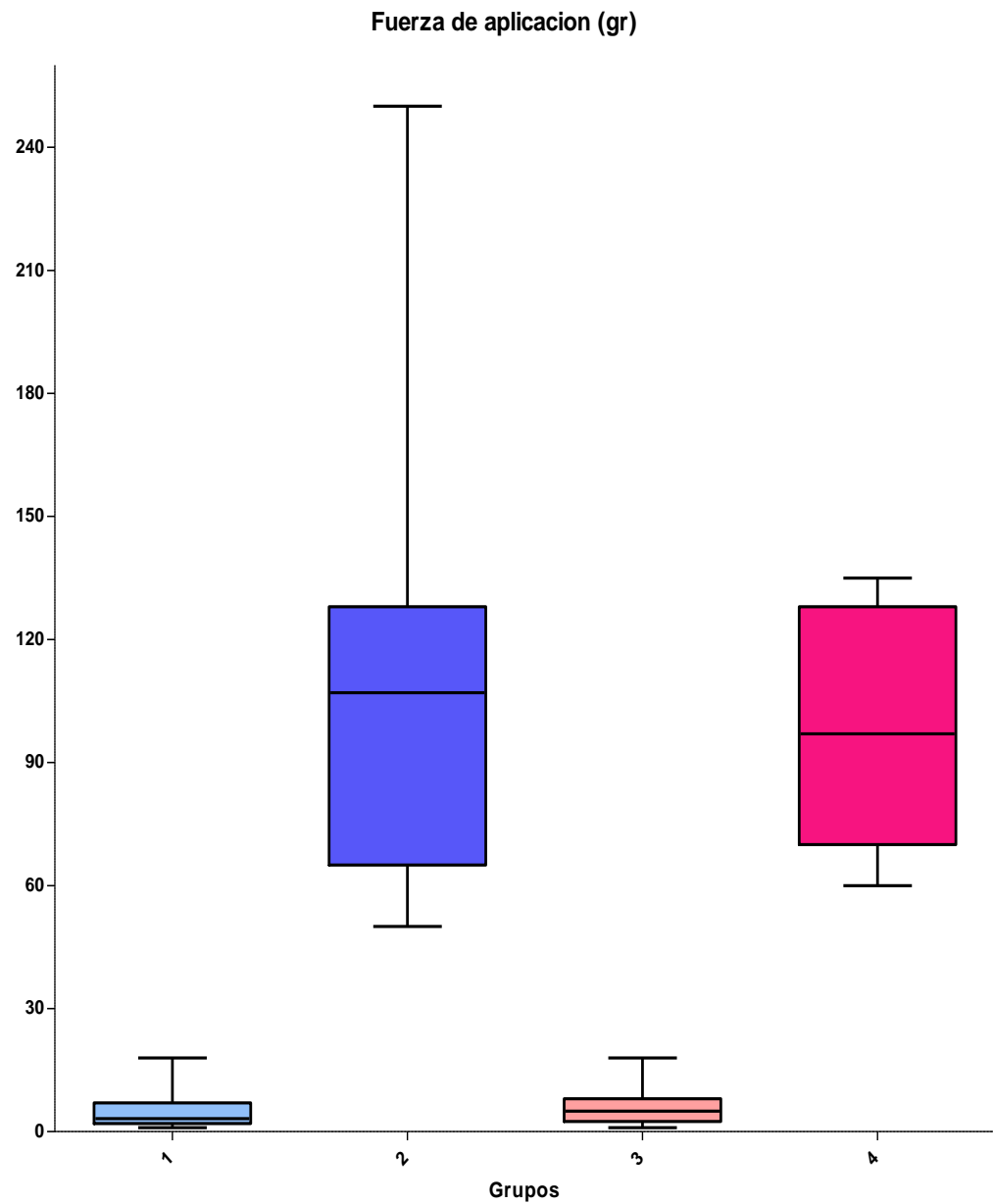


Tabla 5. Análisis descriptivo de las mediciones de Conductancia Hidráulica

Grupo	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Control	15	0,03840000	0,021736160	0,012800	0,085600
1	15	0,01026000	0,014738711	0,003810	0,051980
2	15	0,00354000	0,001565874	0,001710	0,006220
3	15	0,01104000	0,007950990	0,004910	0,031250
4	15	0,00333000	0,003868302	0,001970	0,013300

Para determinar si los datos presentan una distribución normal, fueron sometidos a la prueba de Shapiro-Wilk (Tabla 6).

Tabla 6. Prueba de normalidad para variable conductancia hidráulica.

Grupo	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	df	Sig.
Conductancia Control	0,958	15	0,635
1	0,837	15	0,011
2	0,899	15	0,090
3	0,877	15	0,043
4	0,794	15	0,003

La prueba de Shapiro-Wilk indica que la variable conductancia hidráulica no tiene distribución normal. Por lo tanto, se procedió a analizar los datos mediante pruebas no paramétricas (Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon).

Tabla 7. Prueba de los rangos con signo Wilcoxon para la variable conductancia hidráulica.

Grupos	Z	Asymp. Sig.
Control-1	-2,613	0,009
Control-2	-3,408	0,001
Control-3	-3,067	0,002
Control-4	-3,408	0,001
1-2	-3,351	0,001
1-3	-0,966	0,334
1-4	-2,726	0,006
2-3	-3,408	0,001
2-4	-1,590	0,112
3-4	-2,783	0,005

Tabla 8. Análisis descriptivo de las mediciones de fuerza en gramos al aplicar el adhesivo.

Grupo	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
1	15	3,20	4,568	1	18
2	15	107,00	49,716	50	250
3	15	5,00	4,930	1	18
4	15	97,00	28,268	60	135

Para determinar si los datos presentan una distribución normal, fueron sometidos a la prueba de Shapiro-Wilk (Tabla 6).

Tabla 9. Prueba de normalidad para variable fuerza en gramos.

Grupo	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	df	Sig.
1	0,822	15	0,007
2	0,857	15	0,022
3	0,870	15	0,045
4	0,892	15	0,073

Para determinar si existe correlación entre las variables conductancia hidráulica y fuerza ejercida sobre el disco al aplicar el adhesivo, se sometieron los datos a la Prueba de Spearman.

Tabla 10. Prueba de correlación entre conductancia hidráulica y fuerza ejercida al aplicar el adhesivo Spearman.

		Conductancia hidráulica	Fuerza aplicada gr
Conductancia hidráulica	Coeficiente de correlación	1,000	-0,813
	Sig.	-	0,000
	N	75	75
Fuerza aplicada gr	Coeficiente de correlación	-0,813	1,000
	Sig.	0,000	-
	N	75	75

Según la prueba de Spearman la correlación entre conductancia hidráulica y fuerza ejercida sobre el disco al aplicar el adhesivo es significativa y fuerte.

DISCUSIÓN

El modelo experimental utilizado en este estudio para realizar las mediciones de flujo (Cámara de Difusión) es una modificación al dispuesto por Pashley y colaboradores ⁽²⁴⁾⁽⁶³⁾. Este resulta ser una herramienta económica, fácil de montar y de simple uso, que permite medir la conductancia hidráulica de la dentina, lo que nos refleja la permeabilidad dentinaria.

Se ha determinado que no existen diferencias estadísticamente significativas entre diferentes mediciones de un mismo disco de dentina mediante este instrumento ⁽⁶⁴⁾, por lo que bastó con realizar una medición de flujo para cada muestra en este estudio.

Para determinar el correcto funcionamiento del modelo experimental, se realizó un control positivo y otro negativo previamente a las mediciones experimentales. Como control positivo, se hizo funcionar la cámara de difusión sin interponer muestra alguna, lo que arrojó una tasa de flujo de 6227,5 $\mu\text{l}/\text{min}$. Para el control negativo, se interpuso un disco sólido de resina epóxica de 1 mm de grosor, lo que arrojó una tasa de flujo de cero. Con estos valores, contrastados con estudios previos ⁽⁶⁴⁾, se determinó que no había filtraciones u obstrucciones en los componentes de la cámara.

El tamaño de la muestra fue de 15 discos de dentina de 1 +/- 0,1 mm para cada grupo experimental, que para las características de esta investigación, resulta ser una muestra representativa.

Que el grosor de los discos de dentina fuese de 1 mm, se debe a que con cortes más delgados la dentina podría resultar fracturada dada su fragilidad y la cantidad de manipulaciones ejercidas sobre ella, mientras que en grosores mayores, la posibilidad de que el corte incluyera cuernos pulpares o extensiones de esmalte eran mayores, además de que los tiempos usados para medir la permeabilidad debieron haber sido mucho mayores para obtener mediciones que luego se pudiesen comparar

Ya que la presencia de barro dentinario disminuye la permeabilidad de la dentina, los discos fueron sometidos al grabado con ácido ortofosfórico 37% durante 15 segundos por ambas caras, para así eliminar la capa de barro dentinario generada al realizar los cortes en la recortadora.

La aplicación del adhesivo se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante y en instantes previos a la medición en la cámara de difusión.

Al realizar la prueba de Shapiro-Wilk, se determinó que la conductancia hidráulica de las muestras no tiene distribución normal (Tabla 6), por lo que se utilizó estadística no paramétrica.

Con la prueba de rangos con signo de Wilcoxon (Tabla 7), se estableció que no existían diferencias estadísticamente significativas entre los resultados de conductancia hidráulica obtenidos por hombres y mujeres. Esto se puede deber a que, sin importar el potencial que tenga el operador para ejercer una mayor fuerza al aplicar el adhesivo, el microbrush presenta una fatiga de material cuando la fuerza ejercida es cercana a los 100 gramos. Debido a esto se confirma la hipótesis nula de este trabajo.

Por otra parte, sí existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de aplicación pasiva y activa del adhesivo, mostrándose una importante disminución de la conductancia hidráulica en los discos sobre los que se aplicó el adhesivo de modo vigoroso.

Con el coeficiente de correlación de Spearman (Tabla 10) se obtuvo una fuerte asociación entre las variables conductancia hidráulica y fuerza ejercida en gramos.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la aplicación vigorosa del adhesivo Single Bond Universal® sobre discos de dentina, disminuye significativamente la conductancia hidráulica de estos. Lo anterior indica que al aplicar un adhesivo con frotamiento activo, el sellado de la capa híbrida sobre la dentina mejora.

Para la práctica clínica, esto adquiere gran importancia, en especial al tratar la problemática de la sensibilidad dental.

Basándonos en los resultados de este estudio, se debiera preferir la aplicación vigorosa de adhesivo, por sobre la aplicación pasiva.

CONCLUSIONES

- Los valores de conductancia hidráulica *in vitro* de discos de dentina tratados con adhesivo aplicado por operadores de género masculino y femenino no arrojaron diferencias significativas.
- Se observaron diferencias significativas en los valores de conductancia hidráulica *in vitro* de discos de dentina tratados con adhesivo aplicado pasiva y vigorosamente.
- Se determinó que existe una asociación fuerte entre la fuerza ejercida al aplicar el adhesivo con los valores de conductancia hidráulica dentinaria *in vitro*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) FBC Ghazali. Permeability of Dentine. *Malays J Med Sci.* 2003; 10(1): 27-36.
- (2) Mjör I. Dentin Permeability: The basis for understanding pulp reactions and adhesive technology. *Braz Dent J.* 2009; 20(1):3-4.
- (3) Letelier M, Bersezio C, Martin J, Vildósola P, Xaus G, Letelier C, et al. Efecto del Ácido Oxálico bajo restauraciones cervicales adhesivas de Metacrilato y Silorano en dientes sensibles. *Revista dental de Chile.* 2013; 104 (2) 24- 28.
- (4) Brannstrom. The hydrodynamic theory of dentinal pain: Sensation in preparations, caries and the dentinal crack syndrome. *J Endod.* 1986;12(10):453-7.
- (5) Fu B, Shen Y, Wang H, Hannig M. Sealing ability of Dentin Adhesives/Desensitizer. *Ope Dent.* 2007; 32(5): 496.
- (6) Ajcharanukul O, Oranratmanee K, Thitikunakorn K, Thitikunakorn S. Effect of different osmotic stimuli on fluid before and after self-etching adhesive application. *J Adhes Dent.* 2010; 12:105.
- (7) Oyarzún A, Cordero A, Whittle M. Inmunohistochemical evaluation of the effects of sodium hypochlorite on dentin collagen and glycosaminoglycans. *J Endod.* 2002; 28(3): 152-6.
- (8) Garberoglio R, Brannstrom M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol,* 1976; 21: 355–362.
- (9) Marchetti C, Piacentini C, Menghini P. Morphometric computerized analysis on the dentinal tubules and the collagen fibers in the dentine of human permanent teeth. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol,* 1992; 35: 125–129.
- (10) Pashley DH. Dentin: a dynamic substrate-a review. *Scan Microsc,* 1989; 3:161–176.

- (11) Manuja N, Nagpal R, Pandit IK. Dental adhesion: Mechanism, techniques and durability. *J Clin Pediatr Dent*, 2012; 36(3): 223-234.
- (12) Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vijay P. Buonocore Memorial Lecture: Adhesion to enamel and dentin: Current status and future challenges. *OperDent*, 2003; 28(3): 215-235.
- (13) Pashley DH, Matthews WG, Zhang Y, Johnson M. Fluid shifts across human dentin in vitro in response to hydrodynamic stimuli. *Arch Oral Biol*, 1996; 41(11): 1065-1072.
- (14) Hahn CL, Overton B. The effect of immunoglobulins on the convective permeability of human dentin in vivo. *Arch Oral Biol*, 1997; 42:835.
- (15) Pashley DH, Nelson R, Williams EC. Dentin Hydraulic Conductance: Changes produced by Red Blood Cells. *J Dent Res*, 1981; 69: 1797-1802.
- (16) Pashley DH, Nelson R, Kepler EE. The effects of plasma and salivary constituents on dentin permeability. *J Dent Res*, 1982; 61: 978-981.
- (17) Fawzy AS. Variation in collagen fibrils network structure and surface dehydration of acid demineralized intertubular dentin: effect of dentin depth and air-exposure time. *Dent Mater*, 2010; 26: 35-43.
- (18) Marshall GW, Marshall SJ, Kinney Jh, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent*. 1997; 25:441-458.
- (19) Brännström M. Dentin sensitivity and aspiration of odontoblasts. *J Am Dent Assoc*. 1963; 66:366-370.
- (20) Conejo B, Del Nero M, De la Macorra JC. Medida de la conductancia hidráulica en terceros molares humanos. Un estudio in vitro. *Arch Odontoestomatol*. 1995; 11:76-81.
- (21) Pashley DH, Andringa HJ, Derkson GD, Derkson ME, Kalathoor SR. Regional variability in the permeability of human dentin. *Archs Oral Biol*. 1987; 32: 519-523.

- (22) Paupichartdumrong P, Ikeda H, Suda H. Influence of the pulpal components on human dentine permeability in vitro. *Int Endod J.* 2005; 38:152-159.
- (23) Pashley DH, Livingston MJ. Effect of molecular size on permeability coefficients in human dentin. *Archs Oral Biol.* 1978; 23:391-395.
- (24) Pashley DH, Thompson SM, Stewart FP. Dentine Permeability: Effects of Temperature on Hydraulic Conductance. *J Dent Res.* 1983, 62: 956-9.
- (25) Pashley DH, Livingston MJ, Outhwaite WC. Rate of permeation of isotopes through human dentin, in vitro. *J Dent Res.* 1977, 56: 83-88
- (26) Pratti C. What is the clinical relevance of in vitro dentine permeability tests? *J Dent.* 1994; 22:83-88.
- (27) Pashley DH, Livingston MJ, Greenhill JD. Regional resistances to fluid flow in human dentine in vitro. *Arch Oral Biol.* 1978, 23: 807-810.
- (28) Maroli S, Khera SC, Krell KV. Regional variation in Permeability of Young dentin. *Oper Dent.* 1992, 17: 93-100.
- (29) Perdigao, J. New developments in dental adhesion. *Dent Clin N Am.* 2007, 51 (2): 333-57.
- (30) Outhwaite WC, Livingston MJ Pashley DH. Effects of changes in surface area, thickness, temperature and post-extraction time on human dentin permeability. *Arch Oral Biol.* 1976, 21: 599-603
- (31) Sahin C, Cehreli ZC, Yenigul M, Dayangac B. In vitro permeability of etch-and-rinse and self-etch adhesives used for immediate dentin sealing. *Dental Materials Journal* 2012; 31(3): 401-408.
- (32) Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Dent.* 1991; 3: 133-138.
- (33) Ferrari M, Davidson CL. In vivo resin-dentin interdiffusion and tag formation with lateral branches of two adhesive systems. *J Prosthet Dent.* 1996; 76: 250-253.

- (34) Titley K, Chernecky R, Chan A, Smith D. The composition and ultrastructure of resin *tags* in etched dentin. *Am J Dent.* 1995; 8: 224-230
- (35) Patierno JM, Rueggeberg FA, Anderson RW, Weller RN, Pashley DH. Push-out strength and SEM evaluation of resin composite bonded to internal cervical dentin. *Endod Dent Traumatol.* 1996; 12: 227-236.
- (36) Mallmann A, Jacques LB, Valandro LF, Mathias P, Muench A. Microtensile bond strength of light- and self-cured adhesive systems to intraradicular dentin using a translucent fiber post. *Oper Dent.* 2005; 30: 500-506.
- (37) Freeman R, Varanasi S, Meyers I, Symons A. Effect of air abrasion and thermocycling on resin adaptation and shear bond strength to dentin for an etch-and-rinse and self-etch resin adhesive. *Dental Materials Journal.* 2012; 31 (2): 180-188.
- (38) Aguilera A, Guachalla J, Urbina G, Sierra M, Valenzuela V. Sistemas adhesivos de autograbado. *Revista Dental de Chile.* 2001; 92(2): 23-28.
- (39) Peñaloza O. Descripción al MEB de la capa híbrida y tags de resina con sistemas adhesivos monocomponentes in vivo. Trabajo de investigación para optar al título de Cirujano-Dentista. Facultad de Odontología. Universidad de Chile. 1998.
- (40) Pashley DH Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent.* 1997; 25: 355-372
- (41) Frankenberger R, & Tay FR. Self-etch vs etch-andrinse adhesives: Effect of thermo-mechanical fatigue loading on marginal quality of bonded resin composite restorations. *Dental Materials.* 2005; 21(5) 397-412.
- (42) Can Say E, Nakajima M, Senawongse P, Soyman M, Özzer F, Ogata M, & Tagami J. Microtensile bond strength of a filled vs unfilled adhesive to dentin using self-etch and total-etch technique. *Journal of Dentistry.* 2006; 34(4) 283-291.

- (43) Heintze SD, Ruffieux C, & Rousson V. Clinical performance of cervical restorations—A meta-analysis. *Dental Materials*. 2010; 26(10) 993-1000.
- (44) Padrós-Serrat J, Monterrubio-Berga M, Padrós-Cruz E. Adhesivos autograbantes: ¿Grabar o no grabar? *RCOE*. 2003; 8(4): 363-375
- (45) Velasquez LM, Sargent RS, Burgess JO, & Mercante DE. Effect of placement agitation and placement time on the shear bond strength of 3 self-etching adhesives. *Operative Dentistry*. 2006; 31(4) 426-430.
- (46) Chan K, Tay FR, King NM, Imazato S, & Pashley DH. Bonding of mild self-etching primers/adhesives to dentin with thick smear layers. *American Journal of Dentistry*. 2003; 16(5) 340-346.
- (47) Amaral RC, Stanislawczuk R, Zander-Grande C, Michel MD, Reis A, & Loguercio AD. Active application improves the bonding performance of self-etch adhesives to dentin. *Journal of Dentistry*. 2009; 37(1) 82-90.
- (48) Amaral RC, Stanislawczuk RG, Zander-Grande C, Gagler D, Reis A, & Loguercio AD. Bond strength and quality of the hybrid layer of one-step self-etch adhesives applied with agitation on dentin. *Operative Dentistry*. 2010; 35(2) 211-219.
- (49) Tewari S, Goel A. Effect of placement agitation and drying time on dentin shear bond strength: an in vivo study. *Oper Dent*. 2009; 34(5): 524-530.
- (50) Miyazaki M, Platt JA, Onose H, & Moore BK. Influence of dentin primer application methods on dentin bond strength. *Operative Dentistry*. 1996; 21(4) 167-172.
- (51) Reis A, Pellizzaro A, Bianco KD. Impact of adhesive application to wet and dry dentin on long-term resin dentin bond strength. *Oper Dent*. 2007; 32(4): 380-387.
- (52) Jacobsen T, Soderholm KJM. Effect of primer solvent, primer agitation, and dentin dryness on shear bond strength to dentin. *American Journal of Dentistry* 1998;11:225–8.

- (53) Ying Z, Yong W. Effect of application mode on interfacial morphology and chemistry between dentine and self-etch adhesives. *Journal of Dentistry*. 2013; 41(3): 231-240.
- (54) Moszner N, Salz U, Zimmermann J. Chemical aspects of selfetching enamel-dentin adhesives: a systematic review. *Dental Materials* 2005; 21:895–910.
- (55) Tay FR, Pashley DH, Yiu CKY, Sanares AME, Wei SHY. Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adhesives and chemically-cured or dualcured composites. Part I. Single-step self-etching adhesive. *Journal of Adhesive Dentistry*. 2003 ;5:27–40.
- (56) Scotchbond™ Universal Adhesive Technical Product Profile 2012; 3-33. Web:http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=SSSSSufSevTsZxtUo8_Zo8_UevUqevTSevTSevTSeSSSSSS— (consultado el 25 octubre de 2012)
- (57) Gustafsson A, Lindfors P. Human size evolution: no evolutionary allometric relationship between male and female stature. *Journal of Human Evolution*. 2004; 47: 253–266.
- (58) Wells J. Sexual dimorphism of body composition. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007; 21(3): 415-430.
- (59) Wells JCK, Treleaven P, Cole TJ. BMI compared with 3-dimensional body shape: The UK National Sizing Survey. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2007; 85: 419–425.
- (60) Frisancho AR. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status. Ann Arbor: University of Michigan. 1990.
- (61) Collins TJ. ImageJ for microscopy. *Biotechniques*. 2007 Jul; 43(1):25-30.
- (62) Pereira JC, Segala AD, Gillam DG. Effect of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin subjected to different surface pre-treatments - an in vitro study. *Dent Mater*. 2005 Feb; 21(2):129-38.

(63) Outhwaite, W.C., Mc Kennzie D.M., Pashley D.H. A versatile split chamber device for studying dentine permeability. J. Dent. Res. 1974; 57:1503.

(64) Hevia J. Un modelo experimental para estudiar la conductancia hidráulica de la dentina ex vivo. Tesis para optar al Título de Cirujano Dentista. Facultad de Odontología. Universidad de Chile. 2012.

ANEXOS Y APÉNDICES

ANEXO 1:

Consentimiento Informado para Participar en el Estudio de Evaluación de Permeabilidad Dentinaria en Terceros Molares Extraídos

Título del Protocolo : Donación de dientes para el estudio de Materiales Odontológicos y Técnicas Restauradoras.

Investigador Principal : Prof. Dr. Eduardo Fernández Godoy

Sede de Estudio : Facultad de Odontología, Universidad de Chile – Sergio Livignston 943 – Santiago.

Nombre del Paciente

.....

A Usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación odontológica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender los aspectos siguientes. Este proceso se conoce como consentimiento informado y siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme este formulario.

Los aspectos de este formulario tratan los siguientes temas: Justificación del estudio, Objetivos del estudio, Beneficios del estudio, Riesgos asociados al Estudio y Aclaraciones.

Justificación del Estudio.

Algunos pacientes sufren molestias en sus dientes con posterioridad a los tratamientos de obturaciones odontológicas, se ha observado que este efecto puede relacionarse con algunos materiales dentales utilizados frecuentemente en dichos tratamientos y que puedan perturbar los tejidos al interior de los dientes.

Objetivo del Estudio

El objetivo del presente estudio es evaluar las posibles variaciones que presente la permeabilidad dentinaria de dientes tratados in vitro(en un laboratorio), luego de ser sometidos a diferentes procesos

Beneficios del Estudio

La permeabilidad dentinaria, se basa en la perfusión de diferentes materiales a través de la dentina, generando por tanto un canal de comunicación entre la pulpa dental y el medio externo.

Es así, como dicha perfusión de materiales, generará diferentes tipos de reacciones en la pulpa, pudiendo tener desde una insignificancia en la generación de síntomas y signos, hasta incluso llegar a sensibilidad y compromiso del estado pulpar.

De esta manera, resulta importante conocer los diferentes factores implicados en la permeabilidad dentinaria, para lo cual es necesario su estudio tanto en modelos in vivo, como in vitro (que es el caso de este estudio)

Procedimientos del Estudio

En el caso que usted acepte participar en el estudio se le efectuarán preguntas sobre sus antecedentes sobre salud médica y dental y que los dientes que le serán extraídos por indicación ortodóncica u otra, serán utilizados en el presente estudio.

Riesgos Asociados con el Estudio

Los posibles efectos adversos del procedimiento de extracción y los medicamentos indicados son los mismos que ocurrirían si sus dientes extraídos no fueran entregados para el estudio.

Como no se efectuará ninguna maniobra adicional destinada solo al estudio, los efectos adversos predecibles o impredecibles son los mismos que si usted no donara sus dientes para el estudio.

En caso que presente algún efecto adverso secundario o requiera de otro tipo de atención por dicho motivo, esta se le entregará en los términos que siempre se le han brindado.

Aclaraciones

La participación en el estudio es completamente voluntaria.

No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.

Si usted decide participar puede retirarse cuando lo desee.

No tendrá que efectuar gasto alguno como consecuencia del estudio.

No recibirá pago por su participación.

Usted podrá solicitar información actualizada sobre el estudio, al investigador responsable.

La información obtenida del estudio respecto de la identificación de los pacientes, será mantenida con estricta confidencialidad por los investigadores.

Si considera que no existen dudas ni preguntas acerca de su participación, puede si lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado anexa al documento.

Solo se utilizarán en el presente estudio dientes extraídos por indicación ortodóncica o de otra especialidad.

Carta de Consentimiento Informado

Yo.....
 he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Estoy de acuerdo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de este formulario de consentimiento.

Firma del participante – Padre o Tutor CI Fecha

Testigo CI Fecha

Testigo CI Fecha

Sección a llenar por el Investigador o su representante:

He explicado al Sr(a)..... la naturaleza de la investigación, le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que conozco la normativa vigente para realizar investigación con seres humanos y declaro mi apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento

Firma del Investigador CI Fecha