



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA**

**“Efecto del tiempo de aplicación de Clorhexidina 2% previo a
técnica adhesiva en la conductancia hidráulica transdentaria, en
un modelo *in vitro*”**

Cristian Alfonso Troncoso Lara

**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 PRI-ODO COD 12-007
Santiago – Chile
2013**



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLÓGIA RESTAURADORA**

“Efecto del tiempo de aplicación de Clorhexidina 2% previo a técnica adhesiva en la conductancia hidráulica transdentinaria, en un modelo *in vitro*”

Cristian Alfonso Troncoso Lara

**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 PRI-ODO COD 12-007
Santiago - Chile
2013**

A mi familia, a mis padres y hermanos, por su apoyo y cariño. Por inculcarme el esfuerzo y dedicación para alcanzar cada una de mis metas... Gracias por su eterna compañía y paciencia.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mis gratitud a los docentes y profesores guías, al Prof. Dr. Eduardo Fernández, Dra. Andrea Werner, Dra. Claudia Letelier y al Dr. Cristián Bersezio, tanto por darme la oportunidad de trabajar con ellos en este proyecto, como también por su absoluta disponibilidad para con el trabajo mismo, por sus oportunas aclaraciones y preocupación a lo largo de todo este tiempo. ¡Muchas gracias!

De manera especial a mi familia, a mis padres, por su incondicional apoyo, cariño y consejos desde el momento en que opté por iniciar esta aventura, hasta ahora, momento final de la misma. Y tengo la certeza de que siempre podré contar con ustedes, infinitas gracias, los amo.

Mis amigos de la vida, especialmente Jorge, Francisco y Erick, que crecimos juntos y nos hemos acompañado por ya más de 20 años. Los mejores deseos y éxitos para cada uno de ustedes, los quiero.

A mis amigos y compañeros de universidad, personas que hicieron esta etapa por lejos la mejor de mi vida, porque sin ustedes todo hubiese sido más difícil. Mauri, Diego, Óscar, Toshiro, Kike, Pedro, Roberto, Rodri, Francisca Chuña Velásquez, Chino; discúlpeme si me faltan nombres, la lista podría ser infinita. Simplemente son los mejores y es sólo el principio de una amistad para toda la vida.

Finalmente, a la persona más importante que conocí en la Universidad, a mi amiga, compañera y gran amor, Francisca; porque sin ti, ni siquiera me imagino en haber llegado tan lejos. Porque agradezco una y otra vez haber llegado acá y conocerte, por tu apoyo y amor incondicionales, por tu inmensa paciencia, pero por sobre todo por permitirme ser parte de tu vida y de tu corazón. Te amo afanosamente; no existen barreras ni imposibles para ti y sé serás feliz y plena en tu vida, juntos. Contigo, vivir es más fácil.

Y cómo no mencionar a la Silvia, al Rafa, Lola, Pía y la Gussy, por abrirme las puertas de su hermoso hogar, por recibirme y tratarme siempre como a un hijo más. Nunca olvidaré lo maravillosos que cada uno de ustedes han sido conmigo, los quiero como a otra familia más. ¡Gracias!

Índice

Resumen	9
Introducción y Marco Teórico.....	11
Hipótesis y Objetivos	29
Materiales y Métodos.....	31
Resultados.....	39
Discusión	46
Conclusiones	51
Referencias Bibliográficas	52
Anexos y apéndices.....	61

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar, mediante la utilización de un modelo *in vitro*, la conductancia hidráulica en discos de dentina humana tratados con solución de Clorhexidina 2% (Consepsis®) por 15, 30 y 60 segundos después del grabado ácido de la dentina y previo a la aplicación de 2 capas de adhesivo Single Bond Universal®.

Para esto, se recolectaron bajo firma previa de un consentimiento informado 75 terceros molares humanos sanos, libres de caries y en inclusión de donantes adultos sanos de entre 18 y 30 años de edad. Los dientes fueron almacenados inmediatamente después de su extracción en suero fisiológico 0,9% hasta el momento de su preparación. Los molares fueron desinfectados y limpiados de todo resto orgánico, para luego ser incluidos en cilindros de resina epóxica. Cada cilindro fue cortado de manera transversal en la zona de la corona de los dientes, obteniéndose producto del corte un total de 75 muestras, correspondientes a discos dentina 1mm +/- 0,1 mm de grosor aproximadamente. Las muestras fueron divididas en 5 grupos de 15 discos cada uno (n=15). Las caras oclusal y pulpar de cada muestra fueron grabadas con ácido ortofosfórico al 35% por 15 segundos para eliminar el barro dentinario. Del total de grupos, uno actuó como control y no fue sometido a tratamiento adhesivo alguno. GI: Sin aplicación de solución de Clorhexidina (Chx); GII: Aplicación de solución de Chx 2% por 15 segundos; GIII: Aplicación de solución de Chx 2% por 30 segundos y GIV: Aplicación de solución de Chx 2% por 60 segundos; utilizando en todos ellos (GI, II, III y IV) 2 capas de adhesivo 3M ESPE Single Bond Universal®. La medición de la tasa de flujo de cada una de las muestras se realizó mediante un Sistema de Cámara de Difusión y junto a otros valores se determinó la conductancia hidráulica para todos los discos de dentina.

Los resultados fueron tabulados y sometidos a análisis estadístico por medio de las pruebas de ANOVA y Tukey.

Las conductancias hidráulicas obtenidas como medias para cada grupo, expresados los valores en $\mu\text{l}/\text{min}\cdot\text{cm}^2$ fueron: Control: 0,0433; GI: 0,0085; GII: 0,0071; GIII: 0,0059 y GIV: 0,0057.

Se concluyó que existe diferencia estadísticamente significativa en la conductancia hidráulica del grupo control, comparado con cada uno de los grupos restantes $p=0,000$. Sin embargo, no existe diferencia estadísticamente significativa ($P>0,05$) al ser comparados todos los grupos experimentales entre sí. Por lo tanto, ni la aplicación de solución de Clorhexidina 2% ni el tiempo de acción de la misma influyen en la conductancia hidráulica de discos de dentina humana.

INTRODUCCIÓN Y MARCO TEÓRICO:

I. Estructura Dentinaria:

Las piezas dentarias están constituidas por tejidos tanto mineralizados como no mineralizados. Entre los primeros encontramos esmalte, dentina y cemento y, en los últimos, la pulpa dental. La dentina constituye el eje principal de los dientes y está compuesta en volumen por mineral inorgánico en un 50% (hidroxiapatita carbonatada), una matriz orgánica en un 30% (con colágeno tipo I como principal componente) y un 20% de agua aproximadamente ^(Gómez de Ferraris y Campos Muñoz, 2002). La relación de estos componentes varía según las distintas regiones de la dentina, provocando modificaciones en sus propiedades físico-mecánicas ^(Katz, 1971).

Los túbulos dentinarios atraviesan la dentina en todo su espesor, desde la cámara pulpar hasta el límite amelo-dentinario, alojando dentro de cada túbulo las prolongaciones citoplasmáticas de los odontoblastos ^(Pashley, 1996).

Entre las prolongaciones odontoblásticas y las paredes de los túbulos se encuentra el espacio periodontoblástico, por el cual circula fluido tisular. Éste espacio sirve como ruta de transporte para diversos componentes, desde y hacia la pulpa dental. Debido a la presencia de estos túbulos, la pulpa y dentina se mantienen interconectadas estructural y funcionalmente, actuando de manera conjunta en los distintos procesos de salud-enfermedad a los que se ven enfrentadas. Producto de esta íntima conexión, se habla de esta relación como complejo pulpo-dentinario o dentino-pulpar ^(Pashley, 1996).

Dentro de las distintas capas de dentina la presencia de túbulos dentinarios no es uniforme, siendo éstos mayores tanto en número como en grosor a medida que nos acercamos a la pulpa dental; la densidad de túbulos en la vecindad de la pulpa es de 45.000/mm² aproximadamente, con un diámetro de 4 µm, mientras que en la periferia encontramos densidades de 15.000 - 20.000/mm² y 1.7 µm de diámetro en promedio aproximadamente ^(Gómez de Ferraris y Campos Muñoz, 2002).

Los mencionados túbulos dentinarios le confieren a la dentina el carácter de permeabilidad, propiedad y pilar fundamental en las técnicas de odontología adhesivas (Pashley y Carvahlo, 1997).

II. Permeabilidad Dentinaria

Muchos investigadores han demostrado que existe movimiento de fluidos en dentina. Linden y Brännström aplicaron varios estímulos *in vitro* a dentina expuesta incluyendo presión hidrostática, corrientes de aire, calor, frío, presión negativa y presiones osmóticas, los cuales resultaron en la producción de flujo de fluido a través de los túbulos dentinarios (Linden y Brännström, 1976).

Se define permeabilidad dentinaria como el pasaje de fluidos, iones, moléculas, partículas y bacterias en y a través de la dentina bajo diferentes condiciones (Mjör, 2009).

La permeabilidad dentinaria es un tema estudiado en odontología desde tiempos remotos. En 1914, Fritsch realizó la primera descripción de penetración de sustancias a través de la dentina. Algunas décadas más tarde, Bodecker y Lefkowitz (1946) realizaron un reconocido experimento, en el cual aplicaron una sustancia colorante en una cavidad profunda y luego de un tiempo determinado observaron cómo el colorante difundió a la dentina, pulpa y esmalte vecinos a la cavidad donde había sido aplicado. De esta forma nació el concepto de permeabilidad dentinaria, el que a partir de ese entonces ha sido intensamente investigado en odontología con distintos fines, entre ellos estudiar el efecto del barro dentinario, de tratamientos químicos dentinarios, el flujo de fluidos en cavidades dentinarias, la prueba de materiales obturadores así como las causas de falla de los mismos, entre otros (Prati, 1994).

La Ley de Poiseuille permite representar el comportamiento del flujo de fluido dentinario, así como también establecer los factores físicos que lo determinan, todos ellos descritos en la ecuación de dinámica de fluidos aplicada a la filtración en dentina (Conejo y cols, 1995).

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

Fig. 1: Ecuación de Poiseuille aplicada a la filtración a través de la dentina. “ F_d ” es el volumen de flujo que aparece en la superficie de la dentina, “ P ” es la presión intrapulpal, “ r ” es el radio tubular medio, “ η ” es la viscosidad del fluido dentinario, y “ l ” la longitud media de los túbulos.

De la ecuación se resalta el radio tubular por dos motivos de interés, puesto que corresponde al factor cuya variación afecta de manera más significativa el flujo a través de la dentina y, además, la complejidad que representa su medición en los túbulos dentinarios (Conejo y cols, 1995).

La permeabilidad de la dentina no es homogénea a través de las distintas áreas de las piezas dentarias, debido a que el número y densidad de túbulos dentinarios no es uniforme. De esta manera, del total de fluido, cerca de un 1% se encuentra en la dentina más superficial y aproximadamente un 22% en la dentina más profunda, así como los valores de permeabilidad de la dentina central son más altos siempre que los de las zonas más periféricas (Pashley y cols, 1987; Pashley y cols, 2002).

Debido a lo anterior y, para poder realizar estudios de comparación de permeabilidad dentinaria entre piezas que posean distintas áreas de dentina o de diferentes áreas dentro de una misma pieza, se utiliza la ecuación de Conductancia Hidráulica (Conejo y cols, 1995).

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

Fig. 2: Ecuación de Conductancia Hidráulica de la dentina. “F” es el flujo del fluido a través de la dentina, “A” es el área de la dentina a través de la cual se produce la filtración, “P” la presión hidrostática aplicada y “t” el tiempo en minutos.

III. Factores que determinan la Permeabilidad Dentinaria

Una deficiencia común en los estudios previos de movimiento de fluidos en dentina es que el flujo era medido bajo condiciones pobremente definidas y muchas variables no eran controladas: el grosor de dentina no era uniforme, no era descrita el área de dentina expuesta, entre otras. A fin de solucionar este problema, la conductancia hidráulica de la dentina debe ser cuantificada para proporcionar una descripción de la habilidad del fluido de pasar a través de la dentina. Cabe mencionar entonces que la permeabilidad dentinaria depende de distintas variables que determinan su magnitud; entre las principales encontramos:

- Grosor:

A medida que aumenta el grosor de dentina existe mayor resistencia al flujo de fluidos a través de ella, en consecuencia, disminuye la permeabilidad. Por lo tanto, a mayor grosor del disco de dentina, menor es la permeabilidad, a un área de exposición constante ^(Prati, 1994).

- Área de dentina expuesta:

A mayor área de dentina expuesta, la tasa de filtración a través de la dentina aumenta, a grosor constante ^(Reeder, 1978). Al mismo tiempo, la permeabilidad varía a

lo largo de las diferentes zonas de un mismo diente, aumentando al acercarse a la cámara pulpar, debido a mayor grosor de los túbulos y a un mayor número de ellos por unidad de superficie (Pashley, 1978).

- Barro Dentinario y Grabado Ácido:

El barro dentinario es una capa de desechos microcristalinos que se deposita sobre el tejido mineralizado producto del corte o desgaste con un instrumento rotatorio o manual (Mjör, 2009). Al depositarse sobre las preparaciones cavitarias, oblitera los túbulos dentinarios y reduce los valores de permeabilidad dentinaria al mínimo. Según estudios, la presencia del barro dentinario es capaz de reducir la permeabilidad hasta un 86% (Pashley, 1986). El grabado ácido remueve rápida y fácilmente el barro dentinario; específicamente el grabado con ácido cítrico al 50% por 2 minutos aumenta 32 veces el grado de filtración en dentina (Reeder, 1978). El aumento de la permeabilidad en discos dentinarios grabados se debe a la remoción del barro dentinario sobre la superficie y al interior de los túbulos y a la remoción de la fase mineral de la superficie de la matriz dentinaria. De esta forma, después del grabado, incrementa la presión hidrostática resultando en valores de filtración mucho mayores que en los discos sin grabar (Reeder, 1978).

- Temperatura:

Pashley y cols (1983) sometieron dentina grabada y sin grabar a temperaturas entre 10 y 40°C, demostrando un incremento de la permeabilidad dentinaria, al aumentar la temperatura, de 1.8 veces en los discos sin grabar y, un aumento de hasta 4 veces en la permeabilidad de discos de dentina con grabado ácido. Este aumento se debe a la disminución de la viscosidad del agua así como también al aumento en el diámetro de los túbulos dentinarios debido al coeficiente de expansión lineal de la dentina (reportado como 3.0×10^{-3} por °C) (Pashley y cols, 1983).

- Componente Pulpar:

La pulpa dental exhibe una presión de fluido de tejido intersticial relativamente alta. Esto significa que existe un gradiente de presión en los túbulos dentinarios bajo condiciones de normalidad, y cualquier intento de penetrar a través de la dentina en dirección hacia la pulpa debe hacerlo en contra de esta presión. Por lo tanto, la ausencia del órgano pulpar facilitaría el paso de sustancias a través de la dentina en sentido cameral. Por otra parte, existen factores como la formación de dentina terciaria y aumento de la mineralización conforme avanza la edad, los que resultan en la obliteración de los túbulos, haciendo que la dentina sea menos permeable ^(Mjör, 2009). Además, los procesos odontoblásticos son considerados un factor contribuyente a la oclusión intratubular, reduciendo la permeabilidad de la dentina. Se ha demostrado en dientes de ratas que la perturbación de la capa odontoblástica causa un incremento en la permeabilidad dentinaria. ^(Paupichartdumrong, 2005; Turner y cols, 1989; Izumi y cols, 2001; Byers y Lin, 2003)

En adición a los factores anteriormente nombrados, otras condiciones clínicas tales como cambios con la edad, hipersensibilidad dentinaria, diferentes tipos de desgastes, reacciones biológicas a materiales restauradores, caries dental y materiales de adhesión a dentina modificarían los valores de permeabilidad de la dentina ^(Mjör, 2009).

IV. Adhesión a Dentina

A partir del experimento pionero del Dr. Buonocore, en el cual se introdujo el esmalte grabado químicamente con ácido fosfórico al 85% (Buonocore, 1955), ha existido una creciente demanda por la preservación de la estructura biológica dentaria en los procedimientos restauradores, gatillando el desarrollo de los sistemas adhesivos (Tyas, 2000).

La meta de una restauración adhesiva es poder lograr un sellado y adaptación hermética entre el propio material restaurador y el sustrato dental al cual se adhiere. Esta meta es particularmente difícil de alcanzar, debido a que la dentina contiene una significativa cantidad de agua y material orgánico, mientras más del 90% del esmalte, en peso, está constituido por mineral de hidroxiapatita (Asmussen, 1992).

La adhesión a esmalte ha sido bastante estudiada y desarrollada, obteniéndose altos valores de resistencia a la unión y la eliminación de la microfiltración casi en su totalidad (Van Meerbeek y cols, 2001; Swift y cols, 1995).

En el caso de la dentina, el proceso de adhesión ha sido y sigue siendo muy difícil de obtener, y sus objetivos apuntan principalmente a eliminar la penetración de bacterias, disminuyendo el riesgo de caries secundaria, pigmentación de márgenes y el daño irreversible a la pulpa dental (Lambrechts y cols, 2000). Sin embargo, al ser un sustrato dinámico, esta técnica se torna muy sensible, difícil de lograr e impredecible (Van Meerbeek y cols, 2001).

Muchos factores influyen la sensibilidad de la adhesión a dentina, como la complejidad de su constitución histológica, variabilidad y dinamismo en su composición y otros, como por ejemplo, el tipo de dentina, edad del diente y posición de la dentina en la pieza dentaria (Avery, 1998).

A través de los años se han presentado diferentes sistemas de adhesión a dentina, fundamentados por distintos mecanismos, recursos o técnicas a que se han recurrido para lograr la adhesión (Lambrechts y cols, 2000).

En general, los mecanismos de unión de los sistemas adhesivos consisten básicamente en el reemplazo de minerales removidos desde los tejidos duros dentales por monómeros resinosos, de tal manera que al polimerizar se entrelazan micro-mecánicamente al sustrato dental (Nakabayashi y cols, 1982).

Los sistemas adhesivos han evolucionado continuamente a través de los años, siendo clasificados en un comienzo en generaciones (Kugel y Ferrari, 2000). Con posterioridad, fue propuesta una nueva clasificación de las estrategias de unión a la estructura dentaria: Adhesivos convencionales (de “grabar y lavar”), adhesivos autograbantes y materiales autoadhesivos (Van Meerbeek y cols, 2001; Van Meerbeek y cols, 2010).

En el caso de los sistemas adhesivos convencionales, se desmineraliza la dentina por medio de un ácido, comúnmente ortofosfórico al 37%, exponiendo las fibras colágenas, seguido de la infiltración de monómeros resinosos entre estas fibras expuestas, para finalmente dar lugar a la polimerización *in situ* de los monómeros, constituyendo la denominada *capa híbrida*, la cual corresponde a un entramado de fibras colágenas expuestas, agua residual, cristales de hidroxiapatita y monómeros de resina. (Nakabayashi y cols, 1982; Van Meerbeek y cols, 1992).

A pesar de la formación de tejido hibridizado en la interface diente-resina, tanto adhesivos convencionales como autograbantes tienen su capacidad de adhesión comprometida a lo largo del tiempo (Hashimoto y cols, 2003; Breschi y cols, 2008).

Inevitablemente, los monómeros resinosos no llegan a infiltrar las fibras colágenas expuestas completamente, resultando en una zona de dentina desmineralizada localizada debajo de la capa híbrida, favoreciendo la degradación de la unión diente-resina con el tiempo, mediante hidrólisis del adhesivo y degradación de las fibras colágenas por acción de enzimas propias del hospedero (Sano y cols, 1994; Hashimoto y cols, 2000; Breschi y cols, 2008).

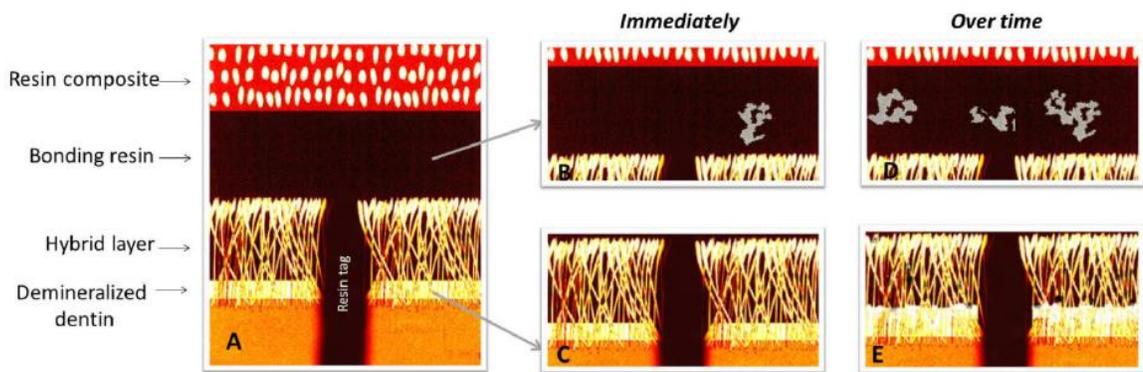


Fig. 3: Dibujo esquemático que representa la secuencia de degradación de la interfase diente-resina a través del tiempo (Adaptado de Hashimoto y cols, 2002). A, Intersfase diente-resina. B, La presencia de depósitos de nitrato de plata (en gris) en la capa adhesiva pronto después de la unión indica la presencia de retención de agua/solvente, así como áreas de polimerización inadecuadas. C, áreas de fibras de colágeno desnudas, incompletamente infiltradas por monómeros de resina, está presente en la base de la capa híbrida. Estas fibras de colágeno son propensas a la degradación por proteínas derivadas del huésped. D, degradación continua a través del tiempo debido a la adsorción de agua. La red polimérica conlleva a la liberación de oligómeros y monómeros residuales, los cuales no están ligados a las cadenas de polímero principal. Esto puede ser identificado por un incremento en el número de depósitos de nitrato de plata en la capa adhesiva. E, el área de infiltración incompleta de colágeno también aumenta con el tiempo.

Las fibras colágenas no infiltradas de las regiones adhesivas puede ser degradadas por enzimas proteolíticas endógenas, que se encuentran en la dentina, llamadas metaloproteinasas de la matriz dentinaria (MMPs) (Pashley y cols, 2004). Ellas son un grupo de enzimas dependientes de zinc y calcio, que regulan el metabolismo fisiopatológico de los tejidos constituidos por colágeno (Chaussain-Miller y cols, 2006). En condiciones de normalidad, las metaloproteinasas están presentes en el substrato dentinario de manera latente. No obstante, la aplicación de sistemas adhesivos provoca su activación (debido a los componentes ácidos del grabado), trayendo como consecuencia la ruptura de la triple hélice de las fibras colágenas y, por tanto, su consecuente degradación (Pashley y cols, 2004).

Han sido identificadas 4 tipos de MMPs presentes en dentina: MMP-2 y MMP-9 (gelatinasas), MMP-8 (colagenasa) y MMP-20 (enamelinasa) (Hannas y cols, 2007).

Los mecanismos de degradación de la capa híbrida involucran degradación enzimática de colágeno e hidrólisis de polímero ^(Hebling y cols, 2005). Con el fin de preservar la integridad de los componentes resinosos de la capa híbrida, la menor permeabilidad de los adhesivos hidrofóbicos tiene un efecto adicional sobre la durabilidad de la interfase adhesiva. Éstos evitan la absorción de agua dentro de la matriz dentinaria, lo que limita la degradación colágena por parte de las metaloproteinasas ^(Komori y cols, 2009).

Por otra parte, varios estudios han mostrado que la integridad de la capa híbrida puede ser preservada mediante la aplicación de inhibidores de las MMPs, reduciendo la degradación del colágeno dentinario ^{((Pashley y cols, 2004; Hebling y cols, 2005)}.

V. 3M ESPE Single Bond Universal Adhesive

Es un adhesivo dental que puede ser utilizado como grabado total, autograbado o grabado selectivo, tanto en restauraciones directas como indirectas.

En su formulación consta de: MDP (Metacriloxidecildihidrogenofosfato), dimetracrilatos, HEMA, copolímero Vitrebond™, relleno, etanol, agua, iniciador y silano.

Según el perfil técnico del producto, Single Bond Universal® es capaz de proveer una alta adhesión para el sellado de la dentina, tanto como adhesivo convencional como en su forma autograbante. De esta forma, evita túbulos dentinarios abiertos, protege de una potencial hipersensibilidad e incluso otorga alivio a pacientes sintomáticos.

Guimaraes y colaboradores demostraron en un estudio *in vitro* que comparó este adhesivo con Single Bond 2, que ambos presentaban similares valores de adhesión a la dentina (Guimaraes y cols, 2012).

Perdigao y colaboradores (2012), mediante un ensayo clínico randomizado compararon 4 sistemas adhesivos del mismo fabricante (3M) en lesiones cervicales no cariosas. Entre ellos estaban: Adper Single Bond Universal, Adper Single Bond Plus, Adper Scotchbond SE, y Adper Easy Bond. Se concluyó que las tasas de retención en un plazo de 18 meses para los cuatro adhesivos, no arrojaban diferencias significativas en el tiempo (Perdigao y cols, 2012).

Oliveira y colaboradores (2012) evaluaron el efecto de diferentes sistemas adhesivos en la conductancia hidráulica de la dentina en dientes bovinos. Se midió la permeabilidad dentinaria antes y después de aplicar los distintos sistemas adhesivos: Adper Single Bond Universal, G-Bond, Clearfil Tri-S Bond, Hybrid Coat, Bond Force, Adper Easy Bond, Silorane y Clearfil SE Bond. No se observaron diferencias significativas de la conductancia hidráulica entre las muestras tratadas

con los diferentes adhesivos. También, se demostró que ninguno de ellos es capaz de lograr un sellado completo de la dentina en diente bovino ^(Oliveira y cols, 2012).



Fig. 4: 3M ESPE Single Bond Universal®

VI. Clorhexidina

La Clorhexidina (Chx) es un compuesto químico sintético descubierto en 1954 durante una investigación sobre las propiedades biológicas de ciertas polibiguanidas y fue seleccionada entre todas como la que presentaba mayor actividad antibacteriana (Davies y cols, 1954). Desde entonces, y debido a su amplio espectro antibacteriano, ha sido utilizada ampliamente en las ciencias médicas como agente antiséptico, comenzando su uso en heridas cutáneas, para, posteriormente, utilizarse también como desinfectante tanto para el cirujano como para el paciente, limpieza clínica de manos, preparación prequirúrgica de la piel, colocación de catéteres y en la higiene bucal (Lim y kam, 2008).

Hoy es ampliamente utilizada en odontología. En este campo el uso de Clorhexidina comenzó como antiséptico para la cavidad oral, hasta que a principios de los años 70, Loe y colaboradores (1971) demostraron que una solución de Clorhexidina al 0.2% utilizado como colutorio, en ausencia de cepillado, era capaz de inhibir la formación de placa bacteriana y, por ende, de gingivitis. De esta forma, la Clorhexidina fue utilizada exitosamente en periodoncia, siendo éste el gran punto de partida para los múltiples usos de este agente que hoy en día existen (Varoni y cols, 2012).

El gluconato de Clorhexidina corresponde a una bisbiguanida catiónica simétrica, con dos cargas positivas en sus extremos, que le confieren gran actividad frente a los aniones. Posee un amplio espectro de acción antimicrobiana, siendo fuertemente activa contra un gran número de bacterias Gram (-) y Gram (+), además de ciertos hongos. Su mecanismo de acción deriva de una fuerte unión a las membranas celulares bacterianas que en bajas concentraciones produce un aumento de la permeabilidad con filtración de componentes intracelulares (efecto bacteriostático) y, a mayores concentraciones, ocasiona precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular (efecto bactericida) (Stanley y cols, 1989).

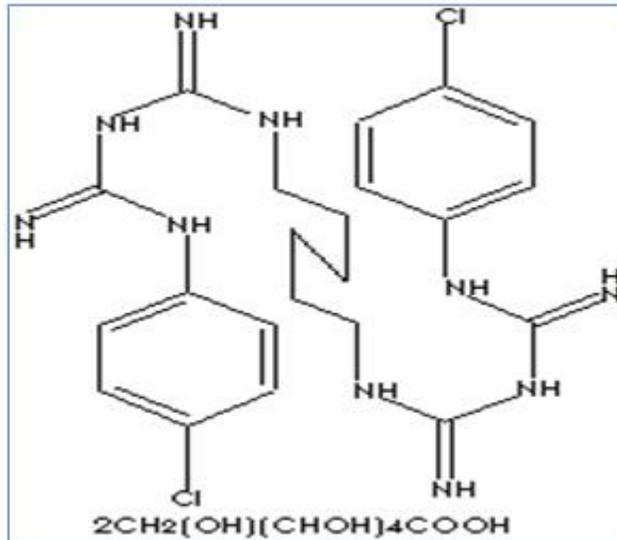


Fig. 5: Fórmula química estructural del digluconato Clorhexidina.

Una de las propiedades más importantes de este agente es su elevada sustantividad. La Clorhexidina adsorbida se libera en su forma activa durante 8-12 horas y después de 24 horas aún es posible encontrarla en bajas concentraciones, evitando la colonización bacteriana durante ese tiempo (Stanley y cols, 1989).

En Odontología Restauradora, la Clorhexidina fue inicialmente introducida como antiséptico de las cavidades previo a la aplicación de los materiales restauradores, con el objetivo de eliminar las bacterias que podrían irritar a la pulpa dental, provocando sensibilidad postoperatoria y caries secundaria (Brannstrom, 1986). Algunos estudios demostraban que existía una suerte de incompatibilidad entre la aplicación de Clorhexidina a la estructura dentaria y la adhesión de materiales en base a resinas (Meiers y Shook, 1996; Meiers y Kresin, 1996; Gürgan y cols, 1999), no obstante, otros probaron y confirmaron que la clorhexidina no afectaba la resistencia de unión inmediata (Perdigao y cols, 1994; Bocangel y cols, 2000; De Castro y cols, 2003). Las limitaciones de los ensayos comúnmente aplicados en esa época para evaluar la eficacia de la adhesión pueden explicar las discrepancias en los resultados obtenidos (Van Noort y cols, 1991); sin embargo, posteriormente este protocolo fue considerado innecesario ya que el ácido fosfórico y también los mismos adhesivos dentales pueden presentar actividad antimicrobiana (Vaidyanathan y cols, 2009).

Gendron y cols, descubrieron en 1999 una nueva propiedad de este antiséptico, al demostrar que soluciones de Clorhexidina, aun a bajas concentraciones, podían inhibir la actividad proteolítica de las MMP-2, MMP -8 y MMP -9. Este efecto inhibitorio, en el caso de MMP-2 Y MMP -9, es debido a mecanismos de quelación de iones metálicos tales como calcio y zinc, lo que impide la activación catalítica. Para la MMP-8, la Clorhexidina interacciona con los grupos sulfhidrilo y/o cisteína de sus sitios activos (Gendron y cols, 1999).

Con estos antecedentes y al demostrado hecho de que las uniones resina-dentina presentaban degradación de las fibras colágenas a través del tiempo, Pashley y Cols (2004) usando matrices de dentina desmineralizada y almacenándolas en saliva artificial por 250 días, concluyeron que la dentina sana tiene la capacidad de degradar las fibras colágenas expuestas por el grabado ácido, en ausencia de microorganismos bacterianos, a través de la acción de las MMPs liberadas a lo largo del tiempo y que, además, el uso de Clorhexidina 0.2% por 60 segundos podía actuar como inhibidor de estas MMPs en la dentina para así evitar y/o retardar este proceso degradativo. Ellos recomendaron el uso de Clorhexidina sobre la dentina grabada, previo al uso de adhesivos de grabado total (Pashley y cols, 2004).

Sin embargo, no fue hasta el año 2006 que se introdujo de forma definitiva este protocolo para prevenir la degradación de la capa híbrida, ya que, de forma pionera, Hebling y cols. incorporaron Clorhexidina dentro del protocolo de aplicación de un adhesivo convencional de grabado total (3M ESPE Single Bond®) en un estudio *in vivo*, en el que fueron usados dientes deciduos cariados, contralaterales. En ellos, una vez removido el tejido cariado, se grabó la dentina por 15 segundos con gel de ácido fosfórico y el adhesivo fue aplicado según las instrucciones del fabricante (grupo control) y en el otro (grupo experimental) fue aplicada una solución de digluconato de Clorhexidina al 2% por 30 segundos después del grabado ácido y previo a la aplicación del adhesivo. Los dientes tratados fueron extraídos luego de 6 meses de función intraoral y, mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (MET), fue demostrado que aquellos dientes tratados con Clorhexidina exhibían una región adhesiva con una integridad

estructural normal de la red colágena, mientras que el grupo control presentó desintegración progresiva de la red de fibras colágenas, hasta tal punto que no fueron detectadas (Hebling y cols, 2006). Posteriormente, Brackett y cols, en otra investigación similar, usaron premolares permanentes contralaterales libres de caries con indicación de extracción por motivos ortodóncicos y aplicaron el protocolo realizado en el estudio pionero para posteriormente ser extraídos, observando una ligera degradación del colágeno en el grupo control en los dientes extraídos a los 6 meses, mientras que en el grupo experimental no se observó degradación (Brackett y cols, 2007).

Usando terceros molares libres de caries y divididos en grupos control (sin Clorhexidina) y experimental (con Clorhexidina) y empleando el adhesivo 3M ESPE Single Bond Plus[®], Carrilho y cols. (2007) observaron que, mediante ensayos de fuerza de unión microtensil, hubo un 35% de disminución en los valores de resistencia de unión en el grupo control después de 14 meses en boca, mientras que en los especímenes tratados con solución de Clorhexidina 2%, no se observó disminución. Por lo tanto, este procedimiento no afectó la fuerza de unión de muestras y hubo menos fallas cohesivas en la dentina y/o capa híbrida cuando la dentina fue tratada con Clorhexidina que cuando no lo fue (Carrilho y cols, 2007).

Posteriormente, Loguercio y cols demostraron que concentraciones de Clorhexidina iguales o mayores a 0.1%, por un tiempo de 15 segundos, parecen ser suficientes para preservar la interfase diente-resina por un período de almacenamiento de 6 meses en agua (Loguercio y cols, 2009).

Existe una relación no lineal entre concentración de Clorhexidina y fuerza de unión. Recientemente, Breschi y cols demostraron que la aplicación por 30 segundos de Clorhexidina tanto 0.2 como 2% disminuyó de manera significativa la degradación dentina-resina almacenada artificialmente por 2 años (Breschi y cols, 2010).

Campos y cols demostraron que la aplicación de Clorhexidina previo a la inserción de restauraciones adhesivas puede disminuir la pérdida de fuerza de unión con el tiempo (Campos y cols, 2009) y, en lesiones cariosas, la aplicación de este antiséptico no

compromete la adhesión en dentina afectada (Erhardt y cols, 2008), con resultados estables durante 6 meses de almacenamiento (Komori y cols, 2009).

Por otra parte, De Castro y cols (2003) señalaron que una solución de Clorhexidina 2% aplicada antes o después del grabado ácido de la dentina no interfiere con la fuerza de unión diente-resina en 3 grupos tratados con distintos sistemas adhesivos (De Castro y cols, 2003) y Lafuente (2012) observó mediante microscopía electrónica de barrido que, en 2 grupos tratados con distintos sistemas adhesivos (Adper Single Bond 2 y Adper SE Plus), en aquellos en que se usó Chx 2% se apreció una capa híbrida más regular en toda su extensión y una clara formación de tags de resina (Lafuente, 2012).

La Clorhexidina ha sido recomendada por diversos autores como agente antiséptico cavitario (Ersin y col, 2008; Fure y Emilson, 1990).

Existe preocupación acerca del uso de estos antisépticos junto con agentes de unión a dentina, ya que podría verse alterado el correcto sellado dentinario (Tulunoglu y col, 1998), y con ello, la permeabilidad de la misma. Ha sido establecido que la utilización de desinfectantes cavitarios con resina compuesta muestra interacciones específicas (relativas al material utilizado) con varios sistemas de adhesión a dentina (Sun y col, 2004; Turkun y col, 2004; Tulunoglu y col, 1998). Dentro de éstos, sólo unos pocos estudios han revelado un incremento en la microfiltración cuando no se aplica Clorhexidina previo al agente de unión (Darabi y Eftekhari, 2009; Filler y col, 1994).

Recientemente Agrawal y col (2013) evaluaron el efecto de una solución desinfectante de Clorhexidina (Consepsis®) sobre la microfiltración en cavidades proximales estrictas realizadas en primeros molares mandibulares sanos, utilizando tanto un adhesivo de grabado total (Grupo 1) (Adper single bond plus, 3M ESPE) como un autograbante (Grupo 2) (Adper easy one self etch, 3M ESPE), restaurando en ambos casos con resina compuesta nanohíbrida (Z350, 3M ESPE). Una vez restaurados las muestras se sumergieron por 24 horas en solución de azul de metileno, para después ser seccionados con discos de diamante en forma mesiodistal. Se observó que el desinfectante cavitario de

Clorhexidina produjo mucho mayor microfiltración en aquellas cavidades que fueron restauradas con el adhesivo autograbante, revelando una menor capacidad de sellado de la dentina. La aplicación de desinfectantes cavitarios en dentina crea superficies que son más resistentes al grabado ácido ^(Meiers y Kresin, 1998). Los autores postulan que esta capa ácido-resistente podría inhibir la habilidad de los primers acídicos débiles de desmineralizar eficazmente la dentina y dificultan la impregnación de la superficie dentinaria por parte de los monómeros hidrófilos, hecho que no ocurriría al utilizar adhesivos de grabado y lavado.

En síntesis, la incorporación de Clorhexidina dentro del protocolo de aplicación de adhesivos convencionales es un recurso plenamente estudiado, validado y aceptado para retardar la degradación de fibras colágenas de la capa híbrida. Sin embargo, no existen estudios ni evidencia concluyente que describa algún posible efecto de esta aplicación sobre el sellado de la dentina, y por ende, su posible efecto en conductancia hidráulica transdentinaria. Por este motivo, un estudio sobre este tema brindaría información acerca de algún posible efecto de este nuevo protocolo sobre la difusión en dentina, siendo el primer paso para futuras investigaciones si los resultados obtenidos así lo ameritaran.

HIPÓTESIS:

H₀: No existen diferencias en la conductancia hidráulica en discos de dentina humana tratados con solución de Clorhexidina 2% (Consepsis®) por 15, 30 ó 60 segundos previo a técnica adhesiva, respecto a discos de dentina no tratados con la misma solución.

H₁: Existen diferencias en la conductancia hidráulica en discos de dentina humana tratados con solución de Clorhexidina 2% (Consepsis®) por 15, 30 ó 60 segundos previo a técnica adhesiva, respecto a discos de dentina no tratados con la misma solución.

OBJETIVOS:

- Objetivo general

Determinar, a través de un modelo *in vitro*, la conductancia hidráulica en discos de dentina humana tratados con solución de Clorhexidina 2% (Consepsis®) por 15, 30 y 60 segundos previo a técnica adhesiva y comparar los resultados con discos de dentina no tratados con la misma solución.

- Objetivos específicos

1. Determinar *in vitro* la conductancia hidráulica de discos de dentina humana luego de ser removido el barro dentinario.
2. Determinar la conductancia hidráulica de discos de dentina humana después de la aplicación de adhesivo 3M ESPE® Single Bond Universal.
3. Determinar la conductancia hidráulica de discos de dentina humana tratados con Chx 2% (Consepsis®) por 15 segundos previo a la aplicación de adhesivo 3M ESPE® Single Bond Universal.
4. Determinar la conductancia hidráulica de discos de dentina humana tratados con Chx 2% (Consepsis®) por 30 segundos previo a la aplicación de adhesivo 3M ESPE® Single Bond Universal.
5. Determinar la conductancia hidráulica de discos de dentina humana tratados con Chx 2% % (Consepsis®) por 60 segundos previo a la aplicación de adhesivo 3M ESPE® Single Bond Universal.
6. Registrar y contrastar resultados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de la Investigación:

El presente estudio es de carácter experimental, *in vitro*.

Muestra:

Se utilizaron 75 terceros molares humanos, superiores e inferiores, que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: Piezas dentarias sanas, libres de caries, sin contacto oclusal y con indicación de exodoncia de pacientes entre 18 y 30 años de edad. Estos dientes fueron obtenidos previa autorización y firma, por parte del paciente, de un consentimiento informado aprobado por el comité de ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (Anexo 1). Estos dientes se conservaron en suero fisiológico 0,9% inmediatamente después de su extracción, hasta el momento de su utilización.

Procedimiento

Previo a su preparación, los dientes fueron retirados del medio de conservación y desinfectados durante 24 horas en solución de timol al 0,1%. Posteriormente, se limpiaron manualmente con curetas (Gracey n° 7-8 HuFriedy USA) para remover todos los restos de ligamento periodontal.

A cada uno de los dientes se les realizó un grabado ácido en todo esmalte coronal con ácido ortofosfórico al 35% (Coltene-Whaledent) por 30 segundos y se lavaron bajo agua por el doble de tiempo, a fin de asegurar un contacto íntimo y sellado hermético, en su posterior inclusión en resina epóxica.

Una vez grabados los dientes se secaron y se les aplicó una capa de cianoacrilato (Ceys® Super Ceys Pincel). Después, se ubicaron los molares al interior de un molde de silicona (previamente envaselinado) de aproximadamente 25 mm de altura y 25 mm de diámetro, de manera tal que el eje ápico-coronal de las piezas

coincidiera con el eje mayor de los cilindros y la cara de oclusal de los dientes se localizara en el fondo de los moldes y sobre una pequeña lámina de cera. Cada molde, con un diente en su interior, fue vaciado con resina epóxica, preparada según indicaciones del fabricante y se dejó transcurrir 48 horas para su completa polimerización. Finalmente, se retiraron los bloques de resina obtenidos de los moldes.

Cada una de las muestras fue cortada con una sierra de baja velocidad (Isomet Buehler Ler Lakebuff IL, USA 1000) (Fig. 6) a 700 rpm, con 500 grs de presión y bajo abundante refrigeración de manera paralela a la cara oclusal de los dientes, obteniendo discos de dentina de 1 mm +/- 0,1 mm de grosor de grosor (Fig.7). En cada disco se identificó la cara oclusal con un círculo.



Fig. 6: Recortadora Isomet Buehler Ler Lakebuff IL, USA 1000.

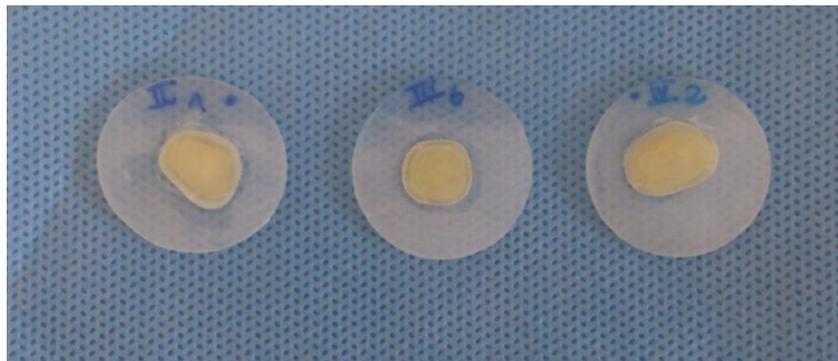


Fig. 7: Discos de dentina humana.

Aquellos discos que a la inspección visual presentaron esmalte en su superficie, fueron regularizados con papel abrasivo (Silicon Paper N° 180, SIA, Switzerland) bajo agua circulando, de manera de eliminar los restos de esmalte y que éstos no influyeran en las mediciones.

En todos los discos se procedió a regularizar ambas caras durante 1 minuto cada una con papel abrasivo (Silicon Paper N° 600, SIA, Switzerland) bajo agua circulando, para estandarizar los grosores y alisar las superficies. Después, el grosor de cada uno de los discos fue medido con un calibrador de metales (1/10 mm Medimax® International).

A continuación, tanto las caras pulpares como oclusales de todas las muestras fueron grabadas con ácido ortofosfórico al 35% (Coltene-Whaledent) por 15 segundos para remover el barro dentinario generado por los cortes y alisado de las caras y se lavaron por 30 segundos con abundante agua.

Se secaron los discos con papel absorbente, previniendo así no secar excesivamente la dentina.

Finalmente, se obtuvo un total de 75 discos de dentina de un grosor de 1 mm +/- 0,1 mm los cuales fueron enumerados correlativamente y divididos en 5 grupos de 15 muestras cada uno. Por lo tanto, el total de discos obtenidos fue clasificado en **5 grupos de estudio** (n=15) y se trataron tal y como se muestra a continuación:

- **Grupo Control:** 15 discos de dentina previamente regularizados con papel abrasivo y grabados con ácido ortofosfórico al 35%, los que no fueron sometidos a tratamiento adhesivo alguno, de manera de actuar como control positivo.
- **Grupo I:** 15 discos de dentina previamente regularizados con papel abrasivo y grabados con ácido ortofosfórico al 35% y que, posteriormente, fueron tratados con adhesivo 3M ESPE® Single Bond Universal según instrucciones del fabricante.

- **Grupo II:** 15 discos de dentina previamente regularizados con papel abrasivo y grabados con ácido ortofosfórico al 35% a los que se les aplicó solución de CHx 2% por 15 segundos (Consepsis®) y que, posteriormente, fueron tratados con adhesivo 3M ESPE® Single Bond Universal según instrucciones del fabricante.
- **Grupo III:** 15 discos de dentina previamente regularizados con papel abrasivo y grabados con ácido ortofosfórico al 35% a los que se les aplicó solución de CHx 2% por 30 segundos (Consepsis®) y que, posteriormente, fueron tratados con adhesivo 3M ESPE® Single Bond según instrucciones del fabricante.
- **Grupo IV:** 15 discos de dentina previamente regularizados con papel abrasivo y grabados con ácido ortofosfórico al 35% a los que se les aplicó solución de CHx 2% por 60 segundos (Consepsis®) y que, posteriormente, fueron tratados con adhesivo 3M ESPE® Single Bond Universal según instrucciones del fabricante.

En los grupos que fueron tratados con Clorhexidina, ésta fue aplicada mediante una jeringa (Fig.8) sobre la cara oclusal de los discos de dentina a tratar, variando el lapso de tiempo que se dejó la solución sobre los discos. Una vez transcurrido el tiempo correspondiente a cada grupo, la solución aplicada fue secada con papel absorbente en su totalidad, evitando así desecar excesivamente la dentina y mediante una presión suave.



Fig. 8: Solución de gluconato de clorhexidina al 2% **Consepsis**®.

El procedimiento de aplicación de adhesivo fue realizado sobre la cara oclusal de los discos de dentina en dos capas, según las instrucciones del fabricante. Cada capa de adhesivo se frotó con un micropincel suavemente sobre la dentina durante 20 segundos a una presión de 10 gr aproximadamente (calibrados mediante balanza de precisión RADWAG WT2000®) (Fig. 9); se sopló levemente por medio de una jeringa triple durante 5 segundos al finalizar la aplicación de cada capa, para finalmente, fotocurar una vez aplicada ambas capas por 20 segundos. La dosificación de adhesivo fue tal que permitiera evitar los excesos, pero que al mismo tiempo cubriera la totalidad del área de dentina de cada disco.



Fig. 9: Balanza de precisión RADWAG WT2000®.

El modelo experimental que se utilizó para medir el flujo está basado en el presentado por Pashley y cols (1981) (Fig 10). El modelo utilizó un reservorio de agua destilada sobre una columna vertical de agua de 200 mm, conectada a una llave de paso. A través de un tubo de silicona, se conectó esta columna a un tubo capilar milimetrado, dispuesto en posición horizontal con capacidad de 0,1 ml. En uno de los extremos del tubo, se incorporó una burbuja de aire, la que actuó como guía de visualización y posterior cuantificación de la filtración a través de los discos de dentina. El capilar se conectó distalmente a una cámara en donde se fijaron los discos dentinarios en estudio, por medio de un tubo de silicona y sellados mediante o-rings de silicona.

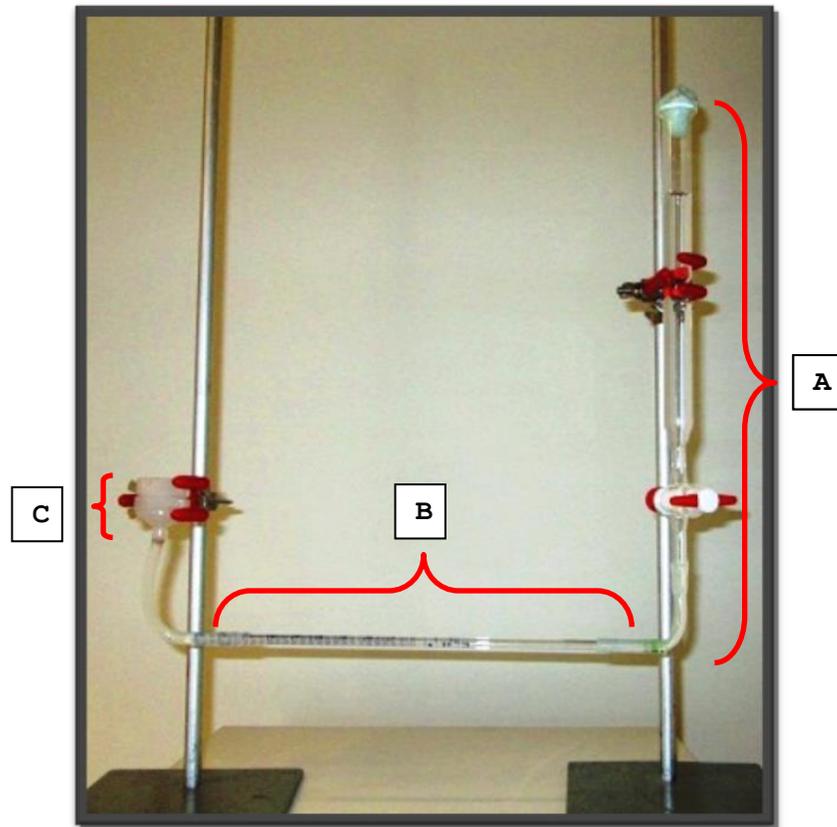


Fig. 10: Sistema de Cámara de Difusión: A. Columna de Agua destilada (20 mm); **B.** Capilar Calibrado a 0.001 ml; **C.** Portafiltro con muestras en su interior.

La tasa de flujo de fluido a través de los discos de dentina se midió mediante el registro de la posición inicial de la burbuja de aire dentro del capilar, para una vez transcurridos 20 minutos, registrar su posición final y calcular el desplazamiento de la burbuja (Fig. 11).

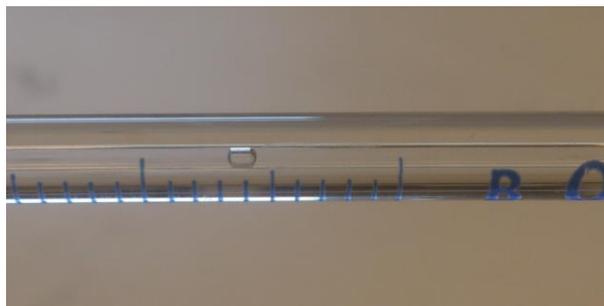


Fig. 11: Burbuja de Aire dentro de capilar calibrado a 0.001 ml.

Las áreas de dentina de cada disco se calcularon a través del software computacional ImageJ (Fig.12), de amplio uso en medicina ^(Collins, 2007), mediante un registro fotográfico previo con una cámara Nikon D3100 (Nikon Corporation ®) a una distancia de 30 cm. Este programa permite calcular digitalmente un área seleccionada en la imagen, la cual correspondió en este caso a toda la superficie de dentina de cada disco. Con el fin de calibrar el programa mediante una distancia conocida, cada muestra se fotografió inmediatamente junto a una regla milimetrada metálica. (Fig.13).

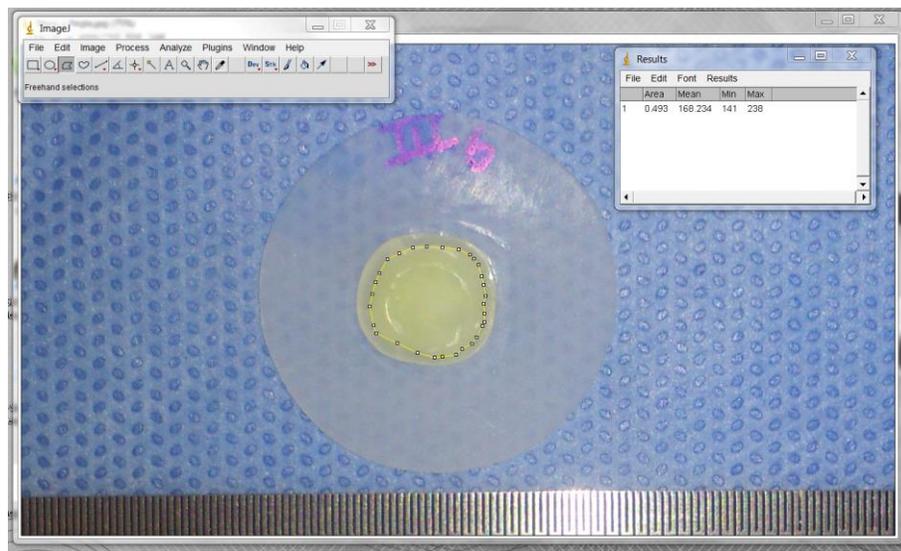


Fig. 12: Cálculo de superficie dentinaria aproximada mediante Imaje J.

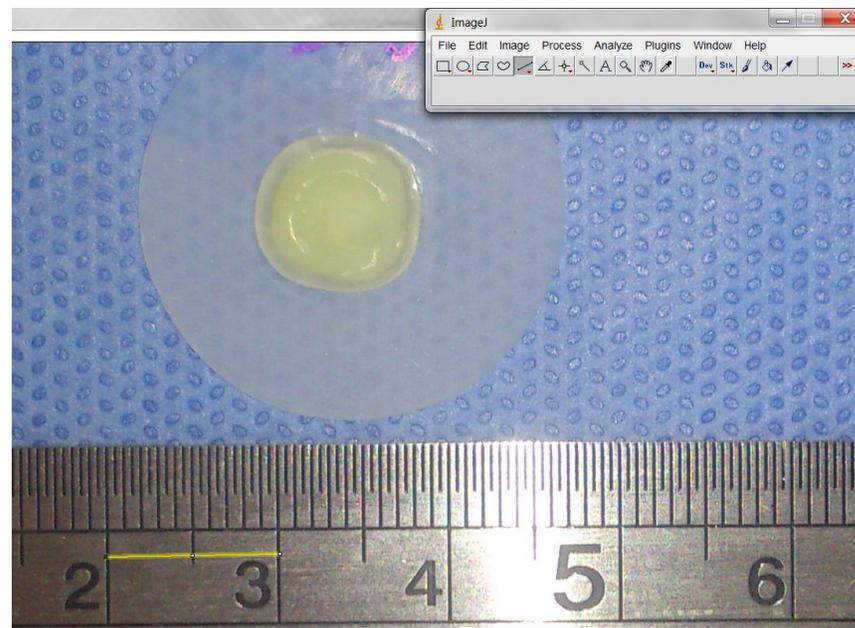


Fig. 13: Calibración del programa a distancia conocida (1cm).

Con el fin de establecer el correcto funcionamiento de la Cámara de Difusión, antes de comenzar a realizar las mediciones, se instaló un disco sólido de resina epóxica como control negativo, cuyo valor para la tasa de flujo fue de 0. Luego, se dejó la cámara sin interponer ninguna muestra como control positivo, y su valor fue de 6227,5 $\mu\text{l}/\text{min}$.

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 ^(Pereira y cols, 2005):

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

Donde:

CH: Conductancia hidráulica de la dentina en $\mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{cm}^2$ (cm H₂O)

F: Tasa de flujo de cada grupo experimental en $\mu\text{l}/\text{min}$.

P: Diferencia de presión hidrostática a través de la dentina, que corresponde a la altura de la columna de agua destilada (20 cm).

SA: Área de superficie de dentina expuesta al fluido en cm^2 .

RESULTADOS

En las tablas 1, 2 y 3 se observan, respectivamente, la tasa de flujo, el área de dentina y la conductancia hidráulica de cada una de las 75 muestras de estudio, divididas en sus grupos correspondientes.

Tabla 1. Tasa de Flujo de cada disco de dentina, expresada en $\mu\text{l}/\text{min}$.

Control		Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV	
Disco	Tasa de Flujo	Disco	Tasa de Flujo	Disco	Tasa de Flujo	Disco	Tasa de Flujo	Disco	Tasa de Flujo
1	0,460	1	0,100	1	0,075	1	0,030	1	0,070
2	0,310	2	0,075	2	0,090	2	0,095	2	0,085
3	0,350	3	0,015	3	0,020	3	0,075	3	0,075
4	0,200	4	0,025	4	0,100	4	0,052	4	0,055
5	0,470	5	0,100	5	0,060	5	0,025	5	0,035
6	0,900	6	0,050	6	0,025	6	0,115	6	0,090
7	0,300	7	0,050	7	0,125	7	0,065	7	0,040
8	0,600	8	0,150	8	0,100	8	0,025	8	0,040
9	0,560	9	0,050	9	0,050	9	0,030	9	0,085
10	0,700	10	0,100	10	0,075	10	0,070	10	0,060
11	0,550	11	0,050	11	0,120	11	0,050	11	0,075
12	0,450	12	0,200	12	0,130	12	0,100	12	0,090
13	0,300	13	0,040	13	0,145	13	0,075	13	0,055
14	0,240	14	0,065	14	0,100	14	0,080	14	0,065
15	0,150	15	0,125	15	0,030	15	0,100	15	0,057
MEDIA:		0,080		0,083		0,066		0,065	
0,436									

Se observa en la tabla que el grupo control (sin tratamiento adhesivo) presentó los más altos valores en cuanto a tasa de flujo se refiere. Todos los grupos experimentales, por tanto sometidos a técnica adhesiva, se comportaron de manera similar, obteniendo valores de tasas de flujo notablemente inferiores a las del grupo control.

Tabla 2. Área dentinaria de cada disco, expresada en cm².

Control		Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV	
Disco	Área (cm ²)								
1	0,607	1	0,571	1	0,552	1	0,679	1	0,601
2	0,294	2	0,352	2	0,525	2	0,698	2	0,612
3	0,495	3	0,464	3	0,440	3	0,542	3	0,499
4	0,459	4	0,385	4	0,642	4	0,462	4	0,455
5	0,451	5	0,327	5	0,548	5	0,668	5	0,715
6	0,526	6	0,308	6	0,475	6	0,523	6	0,693
7	0,791	7	0,544	7	0,541	7	0,680	7	0,489
8	0,500	8	0,601	8	0,709	8	0,569	8	0,791
9	0,730	9	0,443	9	0,455	9	0,550	9	0,531
10	0,730	10	0,406	10	0,499	10	0,628	10	0,674
11	0,373	11	0,392	11	0,492	11	0,581	11	0,639
12	0,341	12	0,547	12	0,723	12	0,515	12	0,632
13	0,593	13	0,456	13	0,810	13	0,496	13	0,413
14	0,571	14	0,564	14	0,609	14	0,456	14	0,621
15	0,587	15	0,677	15	0,565	15	0,564	15	0,456
MEDIA: 0,537		MEDIA: 0,469		MEDIA: 0,529		MEDIA: 0,518		MEDIA: 0,588	

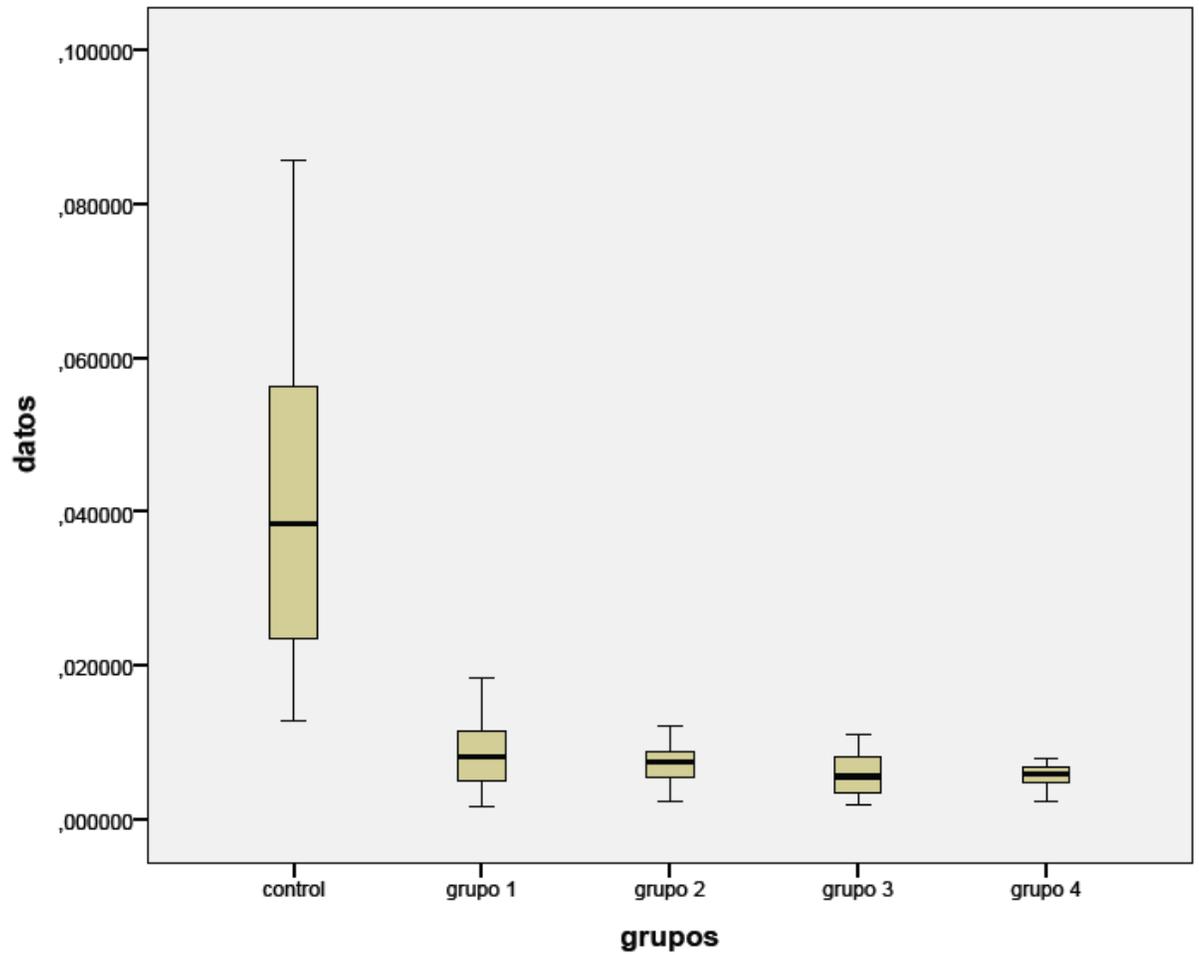
Las áreas dentinarias calculadas para todas las muestras oscilan desde 0,294 cm² (muestra 2, grupo Control) hasta 0,810 cm² (muestra 13, grupo II). Estos valores no siguen un patrón establecido. La media para el grupo experimental n° I es la menor de todos los grupos estudiados; sin embargo, esto no tiene incidencia en los valores de conductancia hidráulica para dicho grupo, pues son compensados a través de la Ecuación de la Conductancia Hidráulica de la Dentina.

Tabla 3. Conductancia Hidráulica (CH) de cada disco de dentina. Los valores están expresados en $\mu\text{l}/\text{min}\cdot\text{cm}^2$.

Control		Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV	
Disco	C.H	Disco	C.H	Disco	C.H	Disco	C.H	Disco	C.H
1	0,0379	1	0,0088	1	0,0068	1	0,0022	1	0,0058
2	0,0527	2	0,0107	2	0,0086	2	0,0068	2	0,0069
3	0,0354	3	0,0016	3	0,0023	3	0,0069	3	0,0075
4	0,0218	4	0,0033	4	0,0078	4	0,0056	4	0,0060
5	0,0521	5	0,0153	5	0,0055	5	0,0019	5	0,0024
6	0,0856	6	0,0081	6	0,0026	6	0,0110	6	0,0065
7	0,0190	7	0,0046	7	0,0116	7	0,0048	7	0,0041
8	0,0600	8	0,0125	8	0,0071	8	0,0022	8	0,0025
9	0,0384	9	0,0056	9	0,0055	9	0,0027	9	0,0080
10	0,0479	10	0,0123	10	0,0075	10	0,0056	10	0,0045
11	0,0737	11	0,0064	11	0,0122	11	0,0043	11	0,0059
12	0,0660	12	0,0183	12	0,0090	12	0,0097	12	0,0071
13	0,0253	13	0,0044	13	0,0090	13	0,0076	13	0,0067
14	0,0210	14	0,0058	14	0,0082	14	0,0088	14	0,0052
15	0,0128	15	0,0092	15	0,0027	15	0,0089	15	0,0063
MEDIA:	0,0433	MEDIA:	0,0085	MEDIA:	0,0071	MEDIA:	0,0059	MEDIA:	0,0057
Ded. Std:	0,2174	Ded. Std:	0,00467	Ded. Std:	0,00299	Ded. Std:	0,00293	Ded. Std:	0,00168

Al examinar todos los grupos, los resultados mostraron que existe diferencia estadísticamente significativa en los valores de conductancia hidráulica al comparar el grupo control (sin aplicación de adhesivo ni de Clorhexidina) con cada uno de los grupos experimentales restantes $p=0,000$. Sin embargo, al ser comparados los grupos experimentales entre sí, es decir, cuando se aplicó exclusivamente Single Bond Universal® (grupo I) v/s aquellos grupos en que además fueron sometidos a solución de CHx 2% por distintos intervalos de tiempo (grupos II, III y IV), no existió diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$) entre ninguno de los grupos estudiado. El gráfico n°2 resume el comportamiento de todos los grupos estudiados.

**Gráfico 2. Conductancia Hidráulica de todos los grupos de estudio.
Gráfico de Cajas y Bigotes**



```
ONEWAY datos BY grupos  
/MISSING ANALYSIS  
/POSTHOC=TUKEY ALPHA(0.05) .
```

Con los resultados ya obtenidos y tabulados, se procedió a realizar su análisis estadístico a través del programa computacional SPSS 21.0 en su versión para Microsoft Windows.

Tabla 4. Descriptivos: Análisis de los valores de conductancia hidráulica, por grupos.

Grupo		N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Conductancia	C	15	,0433	,02174	,0128	,0856
	I	15	,0085	,00467	,0016	,0183
	II	15	,0071	,00299	,0023	,0122
	III	15	,0059	,00293	,0019	,0110
	IV	15	,0057	,00168	,0024	,0080

En primer lugar, y con el objetivo de contrastar la normalidad de los datos, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, cuyos resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Test de Normalidad

Grupo		Shapiro - Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Conductancia	C	,130	15	,653
	I	,137	15	,724
	II	,129	15	,421
	III	,132	15	,482
	IV	,192	15	,181

Por medio de esta prueba se determinó que la variable conductancia hidráulica obedecía a una distribución normal. Por lo tanto, se continuó con el análisis de los datos a través de pruebas paramétricas (ANOVA y Tukey).

Para analizar simultáneamente todas las medias de conductancia hidráulica de los diferentes grupos, se utilizó el test de ANOVA (Tabla 6).

Tabla 6. Test de ANOVA.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-Grupos	,016	4	0,004	39,033	,000
Intra-Grupos	,007	70	0,000		
Total	,023	74			

Este test se basa en la comparación de la variabilidad media que hay entre los grupos con la que hay dentro de los grupos. De esta prueba se obtiene que el valor Sig. está por debajo de nuestro nivel $\alpha = 0,05$ ($p < 0,05$), por lo tanto existe diferencia significativa entre los grupos al ser comparadas sus medias de conductancias hidráulicas.

Sin embargo, producto de las mismas limitaciones de esta prueba, detectamos diferencias significativas entre las conductancias hidráulicas, pero no sabemos específicamente qué o cuáles grupos son distintos. Por lo tanto, aplicamos las Pruebas de Rango Post-hoc, específicamente el Test de Tukey, cuyos resultados se observan en las Tablas 7 y 8.

Tabla 7. Test de Tukey.

Tukey HSD

(I) grupos	(J) grupos	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
control	grupo 1	,034846667*	,003704442	,000	,02447366	,04521967
	grupo 2	,036213333*	,003704442	,000	,02584033	,04658634
	grupo 3	,037373333*	,003704442	,000	,02700033	,04774634
	grupo 4	,037613333*	,003704442	,000	,02724033	,04798634
grupo 1	control	-,034846667*	,003704442	,000	-,04521967	-,02447366
	grupo 2	,001366667	,003704442	,996	-,00900634	,01173967
	grupo 3	,002526667	,003704442	,960	-,00784634	,01289967
	grupo 4	,002766667	,003704442	,945	-,00760634	,01313967
grupo 2	control	-,036213333*	,003704442	,000	-,04658634	-,02584033
	grupo 1	-,001366667	,003704442	,996	-,01173967	,00900634
	grupo 3	,001160000	,003704442	,998	-,00921300	,01153300
	grupo 4	,001400000	,003704442	,996	-,00897300	,01177300
grupo 3	control	-,037373333*	,003704442	,000	-,04774634	-,02700033
	grupo 1	-,002526667	,003704442	,960	-,01289967	,00784634
	grupo 2	-,001160000	,003704442	,998	-,01153300	,00921300
	grupo 4	,000240000	,003704442	1,000	-,01013300	,01061300
grupo 4	control	-,037613333*	,003704442	,000	-,04798634	-,02724033
	grupo 1	-,002766667	,003704442	,945	-,01313967	,00760634
	grupo 2	-,001400000	,003704442	,996	-,01177300	,00897300
	grupo 3	-,000240000	,003704442	1,000	-,01061300	,01013300

Tabla 8. Test Tukey

Grupos	N	Subconjunto para	
		1	2
G IV	15	0,00569333	
G III	15	0,00593333	
G II	15	0,00709333	
G I	15	0,00846000	
Control	15		0,4330667
Sig.		,945	1,000

*Se muestran promedios para grupos en subconjuntos homogéneos

a. Utiliza un tamaño de muestra armónico = 15,000.

DISCUSIÓN

El hablar de permeabilidad dentinaria necesariamente implica comprender la existencia de un intercambio activo de sustancias que ocurre entre la dentina y la pulpa, lo que puede ocasionar cambios tisulares en ambos tejidos dentarios (afectación y/o inflamación pulpar y remineralización dentinaria, entre otros), teniendo esto siempre como objetivo primordial la mantención de la fisiología normal dentro del denominado complejo pulpo-dentinario ^(Pashley, 1996).

Como se mencionó anteriormente, es la presencia de los túbulos dentinarios lo que le confiere a la dentina el carácter de tejido permeable. Esta misma propiedad de la dentina provoca, en casos en que su permeabilidad está facilitada, la aparición de sucesos deletéreos tanto para el paciente como para el profesional, destacando entre ellos la hipersensibilidad dentaria y la creación de una superficie irregularmente húmeda en la dentina expuesta ^(Del Nero, 1996).

Gran parte de los avances en odontología se deben a la aparición de nuevos materiales, cuyo principal mecanismo de unión al diente es la adhesión química y/o la interrelación de un material de baja viscosidad con el tejido dentinario cortado, lo que produce una suerte de microtrabazón con esta superficie irregular. Se desprende de lo anterior que la humedad presente en la superficie adhesiva es determinante de la eficacia de esta unión; sin embargo, antiguamente, la mayoría de las pruebas y experimentos que se realizan en los laboratorios de investigación tienden a ignorar la presencia de este fluido, trabajando sobre tejidos extraídos secos, obteniendo por tanto resultados dispares respecto a los obtenidos en clínica ^(Del Nero, 1996).

De aquí deriva la relevancia del estudio de la permeabilidad dentinaria en odontología, la que apunta como objetivo el desarrollar nuevos materiales restauradores, comprender sus fallas en el tiempo, y entender cómo se produce el daño y dolor pulpar, entre otros ^(Prati, 1994).

Este estudio se fundamentó en el modelo experimental de Cámara de Difusión presentado por Pashley y cols (1981), con algunas modificaciones. Este modelo resulta ser un instrumento simple y fácil de montar, efectivo y económico (De la Macorra y Escribano, 2002). En cuanto a las mediciones de flujo propiamente tal, se ha determinado que no existen diferencias estadísticamente significativas entre diferentes mediciones de un mismo disco de dentina, ya sea en una misma máquina o en máquinas distintas (Hevia, 2012). Lo anterior justificó el haber realizado sólo una medición de 20 minutos por cada muestra en este estudio. No obstante, este modelo de cámara de difusión y micropipeta no está exento de inconvenientes. Por un lado, el método de registro de mediciones es eminentemente visual y, por tanto, es posible atribuírsele errores del observador, especialmente cuando la burbuja de aire utilizada para medir se sitúa entre dos unidades de medida continuas, dependiendo única y exclusivamente del observador y su criterio el valor final asignado a la medición y, además, el nivel de presión con que se cierra el portafiltro de la máquina no siempre es el mismo en las distintas mediciones, lo que podría generar niveles de presión disímiles en el sistema (De la Macorra y Escribano, 2002).

En relación a la metodología propiamente tal, este modelo experimental requiere de discos que presenten dentina permeable, por lo que para estandarizar las muestras fue necesario eliminar, en ambas caras de las muestras, el barro dentinario generado durante el corte y obtención de los discos de dentina, de igual forma que ocurre en la preparación de cavidades, ya sea por piedras de diamante o fresas de carbide. Esta capa de barro dentinario presente en la superficie de la dentina actúa como una verdadera barrera física que disminuye la permeabilidad dentinaria hasta en un 35% aproximadamente, fenómeno que es causado principalmente por el taponamiento de los túbulos dentinarios por el barro dentinario y no así por el barro que se deposita en el resto de la superficie de la dentina (Dippel y cols, 1984; Pashley y cols, 1981).

Una vez grabados los discos, fueron lavados por el doble de tiempo que se aplicó el ácido y, posteriormente se secaron con papel absorbente y sin la utilización de aire de manera directa, a fin no desecar la dentina y así evitar el colapso de las fibras de colágeno expuestas por el grabado ^(Pashley y cols, 1993).

El agente adhesivo usado en este estudio fue Single Bond Universal[®], que corresponde a un adhesivo de reciente aparición en el mercado. En su formulación consta de MDP (Metacrilóxidecildihidrogenofosfato), dimetracrilatos, HEMA, copolímero Vitrebond[™], relleno, etanol, agua, iniciador y silano. Este adhesivo es capaz de proveer una alta adhesión y sellado de la dentina, tanto al ser usado como adhesivo convencional que como autograbante ^(Scotchbond[™], 2012).

El método de aplicación de adhesivo en los discos de dentina se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante y con una presión de aproximadamente 10gr; todo esto de manera previa a su medición en la cámara de difusión, dejando transcurrir para todas las muestras un tiempo de 10 minutos aproximadamente entre la hibridación de la dentina y la medición de las tasas de flujo, esto con el objetivo de estandarizar los protocolos y no obtener mediciones condicionadas por variables no controladas.

Estudios concluyen que Single Bond Universal[®] presenta valores similares a Single Bond 2[®] y a otros adhesivos del mercado en cuanto a efectividad en la fuerza de unión, sellado de la dentina y en tasas de retención a los 18 meses luego de ser aplicado ^(Guimaraes y cols, 2012; Perdigao y cols, 2012). Oliveira y cols (2012) obtuvieron valores de conductancia hidráulica similares en dentina de dientes bovinos al aplicar diversos sistemas adhesivos, entre los que se encontraba Single Bond Universal[®] y que, al mismo tiempo, demostró que ningún sistema adhesivo era capaz de lograr un sellado completo de la dentina en dientes bovinos ^(Oliveira y cols, 2012).

Consepsis[®] es una solución que consta en su composición de Clorhexidina gluconato y alcohol etílico con un pH de aproximadamente 6.0. La Chx es soluble en agua y se disocia a pH fisiológico. Cuando esta solución es aplicada en

dentina, es también absorbida por el barro dentinario y hace de la dentina una superficie ácido resistente. Se ha escrito que la utilización de antisépticos cavitarios con resina compuesta muestra interacciones específicas (relativas al material utilizado) con varios sistemas de adhesión a dentina (Sun y col, 2004; Turkun y col, 2004; Tulunoglu y col, 1998). Sin embargo, contrario a este consenso, se ha sugerido que los desinfectantes cavitarios pueden mejorar la habilidad de sellado de los agentes de unión a dentina mediante la rehumectación de la cavidad previo a la aplicación de un agente de unión que actúe bajo estructura dentaria húmeda (Miller, 1995). En la actualidad, a pesar de no existir un acuerdo establecido en la literatura, los estudios parecieran concordar en que la Clorhexidina no afecta (sin conocer la causa), al menos de manera negativa, la capacidad de sellado de los sistemas de adhesión a dentina (Sung y col, 2004; Sharma y col, 2009; Turkun y cols, 2004).

En relación al tiempo de aplicación Clorhexidina, la elevada sustantividad de la misma puede explicar el hecho de que no se hayan producido diferencias significativas en los distintos grupos (15, 30 y 60 segundos). La sustantividad de la Clorhexidina está relacionada con la liberación de moléculas cargadas positivamente desde las superficies tratadas con Chx y su capacidad de ser absorbida sobre las superficies de la cavidad oral (Gjermeo y cols, 1974; Rosenthal y cols, 2004).

Teóricamente, la Clorhexidina también podría unirse a fibras colágenas desmineralizadas y expuestas. Se sugiere que la Clorhexidina probablemente se une a las fibrillas colágenas de manera rápida, incluso en breves periodos de tiempo, tales como 15 segundos, lo que parece ser suficiente para garantizar la unión. Esta hipótesis se desprende de dos estudios, en los que se demostró que un tiempo de aplicación de 15 y 30 segundos de Clorhexidina fue capaz de posponer la degradación de la interfase diente-resina (Breschi y cols, 2009; Loguercio y cols, 2009).

Debido a lo anterior, un periodo breve de tiempo garantiza la unión de la Clorhexidina a su sustrato y, por lo tanto, tiempos mayores no alterarían la eficacia ni las características de dicha unión.

Por otra parte, debido a sus propiedades catiónicas, Clorhexidina puede unirse a sitios que contienen colágeno y posiblemente al calcio en la parte inferior de la capa híbrida, reduciendo los nanoporos dentro de la misma capa, tal como fue hipotetizado por Carrilho; sin embargo, todo esto aún requiere investigación adicional ^(Carrilho y cols, 2009).

Los resultados obtenidos reflejan claramente que el hecho de aplicar un sistema adhesivo sobre la dentina humana, en este caso Single Bond Universal[®], disminuye de manera estadísticamente significativa la conductancia hidráulica transdentinaria (grupos I, II, III y IV) al ser comparado con aquellos casos en que la dentina no es sellada (grupo control), desechando así la posibilidad de que la aplicación de Chx 2% altere los valores de permeabilidad de la dentina.

Por lo tanto, de acuerdo a los resultados obtenidos, la utilización de una solución acuosa de CHx 2% (Consepsis[®]) por distintos intervalos de tiempo, después de realizado el grabado ácido de la dentina y previo a su hibridación, no afecta la conductancia hidráulica *in vitro* en discos de dentina humana. En cuanto a la clínica, los resultados sugieren que la aplicación de CHx 2% como promotor de la estabilidad de la capa híbrida no afecta la permeabilidad de la dentina humana.

CONCLUSIONES

- ❖ Existen diferencias estadísticamente significativas en la conductancia hidráulica *in vitro* entre discos de dentina humana con aplicación de adhesivo y en discos sin aplicación de adhesivo.
- ❖ No existen diferencias estadísticamente significativas en la conductancia hidráulica *in vitro* entre discos de dentina humana con aplicación de solución de Clorhexidina 2% y discos sin aplicación de dicha solución.
- ❖ El tiempo de aplicación de solución de Clorhexidina 2% no influye en los valores de conductancia hidráulica *in vitro* en discos de dentina humana inmediatamente después de su aplicación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Asmussen E, Uno S. Adhesion of restorative resin to dentin: chemical and physicochemical aspects. *Oper Dent* 1992;(Suppl. 5):68–74.

Avery JA. Dentin: In oral histology and embryology. Bhaskar, SN. Mosby, Co., St.Louis, 1998: 101-134.

Bocangel JS, Kraul AOE, Vargas AG, Demarco FF, Matson E. Influence of disinfectant solutions on the tensile bond strength of a fourth generation dentin bonding agent. *Pesq Odont Bras.* 2000;14(2):107-11.

Boston DW, Graver HT. Histological study of an acid red caries-disclosing dye. *Oper Dent* 1989;14(4):186-92.

Brannstrom M. The hydrodynamic theory of dentinal pain: sensation in preparations, caries, and the dentinal crack syndrome. *J Endod.* 1986;12(10):453-7.

Brannstrom M. The cause of post restorative sensitivity and its prevention. *J Endod* 1986 Oct;12(10):475-81.

Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjäderhane L, et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2-year in vitro study. *Dental*

Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, et al. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater* 2008;24:90–101.

Breschi L, Cammelli F, Visintini E, Mazzoni A, Vita F, Carrilho M, et al. Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. *Journal of Adhesive Dentistry* 2009;11:191–8.

Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of

chlorhexidine on dentin hybrid layers in vivo. Oper Dent. 2007;32(2):107-11

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res 1955;34:849-53

Carrilho MRO, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipoólito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, & Tjäderhane L (2007) Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro Journal of Dental Research 86(1) 90-95

Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. Journal of Dental Research 2006;85:22-32

Campos EA, Correr GM, Leonardi DP, Barato-Filho F, Gonzaga CC, Zielak JC. Chlorhexidine diminishes the loss of bond strength over time under simulated pulpal pressure and thermo-mechanical stressing. J Dent 2009 Feb;37(2):108-14

Cao DS, Hollis RA, Christensen RP, Christensen GJ, Effect of tooth disinfecting procedures on dentin shear bond strength [abstract 493]. J Dent Res 1995;74:73.

Conejo B, Del Nero M, De la Macorra JC. (1995) Medida de la conductancia hidráulica en terceros molares humanos. Un estudio *in vitro*. Arch Odontostomatol 11: 76-81

Darabi F, Eftekhari M. Effect of chlorhexidine on microleakage of composite restorations. Journal of Dentistry, Tehran University of Medical sciences 2009;6:16-22

Davies GE, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G. 1:6-Di-4'-chlorophenyldiguanidohexane (hibitane); laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. Br J Pharmacol Chemother. 1954;9(2):192-6.

Del Nero MO, Conejo B, De La Macorra JC. Un Método experimental para el estudio la Permeabilidad Dentinaria. EJDR [internet]. 1996; disponible en:

http://eprints.ucm.es/5070/1/Un_metodo_experimental_para_el_estudio_de_la_permeabilidad_.pdf

De Castro FL, de Andrade MF, Duarte Júnior SL, Vaz LG, Ahid FJ. Effect of 2% chlorhexidine on microtensile bond strength of composite to dentin. *J Adhes Dent*. 2003 Summer;5(2):129-38

De la Macorra JC, Escribano NI (2002). Comparison of two methods to measure permeability of dentin. *J Biomed Mater Res* 63:531-534.

Dippel HW, Borggreven JM, Hoppenbrouwers PM. Morphology and permeability of the dentinal smear layer. [J Prosthet Dent](#). 1984;52(5):657-62

Erhardt MC, Osorio R, Toledano M. Dentin treatment with MMPs inhibitors does not alter bond strengths to caries-affected dentin. *J Dent*. 2008 Dec;36(12):1068-73.

Ersin NK, Aykut A, Candan U, Onçağ O, Eronat C, Kose T. The effect of a chlorhexidine containing cavity disinfectant on the clinical performance of high viscosity glass-ionomer cement following ART: 24-month results. *Am J Dent* 2008;21:39-43.

Filler SJ, Lazarchik DA, Givan DA, Retief DH, Heaven TJ. Shear bond strengths of composite to chlorhexidine-treated enamel. *Am J Dent* 1994 Apr;7(2):85-8.

Fure S, Emilson CG. Effect of chlorhexidine gel treatment supplemented with chlorhexidine varnish and resin on Mutans Streptococci and Actinomyces on root surfaces. *Caries Res* 1990;24:242-7

Gendron R, Greiner D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8 and 9 by chlorhexidine. *Clinical Diagnosis & Laboratorial Immunology* 1999;6:437-9.

Gjeramo P, Bonesvoll P, Røilla G. Relationship between plaque-inhibiting effect and retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Arch Oral Biol* 1974; 19: 1031-1034.

Guimaraes LA, Almeida JC, Wang L, D'Alpino PH, Garcia FC. Effectiveness of immediate bonding of etch-and-rinse adhesives to simplified ethanol-saturated dentin. *Braz Oral Res*. 2012 Apr; 26(2):177-82.

Gürkan S, Bolay S, Kiremitçi A. Effect of disinfectant application methods on the bond strength of composite to dentin. *J Oral Rehabil*. 1999;26(10):836-40.

Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand*. 2007;65(1):1-13.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res*. 2000;79(6):1385-91.

Hashimoto M, Ohno H, Sano H, et al. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials* 2003;24: 3795–803.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, et al. Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. *J Dent* 2002;30:99-105.

Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res* 2005;84:741-746

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.

Komori PC, Pashley DH, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, de Goes MF, Wang L, Carrilho MR. Effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength to normal versus caries-affected dentin. *Oper Dent* 2009;34:157-165.

Kugel G, Ferrari M. The science of bonding: from first to sixth generation. *J Am Dent Assoc.* 2000;131 Suppl:20S-25S.

Lafuente D. SEM analysis of hybrid layer and bonding interface after chlorhexidine use. *Oper Dent.* 2012 Mar-Apr;37(2):172-80

Lambrechts P, Van Meerbeek B, Perdigao J, Vanherle G. Adhesives: Dos and Don'ts. In: Roulet JF, Degrange M. *Adhesion: The silent revolution in dentistry.* Quintessence publishing, Co., Inc. Chicago 2000; 4: 45-60.

Leung RL, Loesche WJ, Charbeneau GT. Effect of Dycal on bacteria in deep carious lesions. *J Am Dent Assoc* 1980 Feb;100(2):193-7.

Lim KS, Kam PC. Chlorhexidine pharmacology and clinical applications. *Anaesth Intensive Care.* 2008;36(4):502-12.

Linden, L., and Brannstrom, M.: Fluid Movements in Dentine and Pulp. An In Vitro Study of Flow Produced by Chemical Solutions on Exposed Dentine, *Odont Revy* 18:227-236, 1976.

Loguercio AD, Stanislawczuk R, Polli LG, Costa JA, Michel MD, Reis A. Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin-dentin bond strength durability. *Eur J Oral Sci.* 2009 Oct;117(5):587-96 *Materials* 2010;26:320–5.

Löe H, Mandell M, Derry A, Schott CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on calculus formation in man. *J Periodontal Res.* 1971;6(4):312-4.

Meiers JC, Shook LW. Effect of disinfectants on the bond strength of composite to dentin. *Am J Dent*. 1996;9(1):11-4.

Meiers JC, Kresin JC. Cavity disinfectants and dentin bonding. *Oper Dent*. 1996;21(4):153-9.

Mjör I. Dentin Permeability: The basis for understanding pulp reactions and adhesive technology. *Braz Dent J* 2009; 20:3-16

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *Journal of Biomedical Materials Research* 1982;16:265–73

Oliveira A, Tavares M, Nikaido T, Tagami J, Giannini M. Effect of adhesive system and application strategy on reduction of dentin permeability. *Brz Oral Res*. 2012 Sep; 26(5): 397-403.

Pashley DH, Michelin V, Kehl T. Dentin permeability: Effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent*. 1981 Nov; 46(5): 531-7.

Pashley DH, Depew DD. Effects of the smear layer, Copalite, and oxalate on microleakage. *Oper Dent*. 1986 Summer;11(3):95-102

Pashley DH, Andringa HJ, Derkson GD, Derkson ME, Kalathoor SR (1987). Regional Variability in the permeability of human dentine. *Archs Oral Biol* 32:519-523.

Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, *et al*. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*. 2004;83(3):216-21.

Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83:216-221.

Pashley D.H., Livingston M.J., Greenhill J. D. Regional resistance to fluid flow in human dentine *in vitro*. *Archs oral Biol.*, 1978; 23: 807-10

Pashley DH, Pashley EL, Carvalho RM, Tay FR (2002). The effects of dentin permeability on restorative dentistry. *Dent Clin N Am* 46:211-245

Pashley DH, Thompson SM, Stewart FP. Dentin permeability: Effects of temperature on hydraulic conductance. *J Dent Res*. 1983 Sep; 62(9): 956-9

Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of dentin to adhesives agents. *Quintessence Int*. 1993 Sep; 24(9): 681-31.

Paupichartdumrong P, Ikeda H, Suda H. (2005) Influence of the pulpal components on human dentine permeability *in vitro*. *Int Endod J* 38: 152-159.

Perdigao J, Denehy GE, Swift EJ Jr. Effects of chlorhexidine on dentin surfaces and shear bond strengths. *Am J Dent*. 1994;7(2):81-4.

Perdigao J, Dutra-Correa M, Saraceni CHC, Ciaramicoli MT, Kiyon VH, Queiroz CS. Randomized Clinical Trial of four Adhesion Strategies: 18-Month Results. *Op Dent* 2012; 31(1): 3-11.

Prati C (1994). What is the clinical relevance of in vitro dentine permeability tests? *J Dent*. Apr;22(2):83-8

Rosenthal S, Spangberg L, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 98: 488–492-

Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. *Oper Dent*. 1994;19(2):59-64.

Scotchbond™ Universal Adhesive Technical Product Profile 2012; 3-33

Sharma V, Nainan MT, Shivanna V. The effect of cavity disinfectants on the sealing ability of dentin bonding system: An in vitro study. J Conserv Dent. 2009 Jul;12(3):109-13.

Stanley, A., M. Wilson, and H. N. Newman. 1989. The *in vitro* effects of chlorhexidine on subgingival plaque bacteria. J. Clin. Periodontol. 16:259–264

Sung EC, Chan SM, Tai ET, Caputo AA. Effects of various irrigation solutions on microleakage of Class V composite restorations. J Prosthet Dent 2004 Mar;91(3):265-7.

Swift EJ, Perdigao J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: A brief history and state of the art, 1995. Quintessence International 1995; 26(2): 95-110.

Reeder OW Jr, Walton RE, Livingston MJ, Pashley DH. Dentin permeability: determinants of hydraulic conductance. J Dent Res. 1978 Feb;57(2):187-93

Tulunoglu O, Ayhan H, Olmez A, Bodur H. The effect of cavity disinfectants on microleakage in dentin bonding systems. J Clin Pediatr Dent. 1998;22:299–305.

Turkun M, Turkun LS, Kalender A. Effect of cavity disinfectants on the sealing ability of nonrinsing dentin-bonding resins. Quintessence Int 2004 Jun;35(6):469-76.

Tyas MJ, Anusavice KJ, Frencken JE, Mount GJ. Minimal intervention dentistry--a review. FDI

Van Noort R, Cardew GE, Howard IC, Noroozi S. The effect of local interfacial geometry on the measurement of the tensile bond strength to dentin. J Dent Res. 1991;70(5):889-93.

Vaidyanathan M, Sheehy EC, Gilbert SC, Beighton D. Antimicrobial properties of dentine bonding agents determined using in vitro and ex vivo methods. J Dent. 2009;37(7):514-21.

Van Meerbeek B, Inoue S, Perdigao J, Lambrechts P, Vanherle G. Enamel and dentin adhesion. In: Summit JB, Robbins JW, Schwartz RS. Fundamentals of Operative Dentistry. A contemporary approach. Second edition. Quintessence Publishing Co., Inc. Chicago, 2001; 8: 178- 235.

Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, et al. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. J Dent Res 1992;71:1530–40

Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, *et al.* Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. Dent Mater. 2010;26(2):e100-21.

Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P, *et al.* Adhesives and cements to promote preservation dentistry. Oper Dent. 2001;26(Suppl 6):119-44.

Varoni E, Tarce M, Lodi G, Carrassi A. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. Minerva Stomatol. 2012 Sep;61(9):399-419

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 – Olivos 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 efectuaran preguntas sobre sus antecedentes sobre salud médica y dental y que los dientes que le serán extraídos por indicación ortodoncica 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.

