

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES

DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA



Estudio de la microfiltración de adhesivos de quinta y séptima generación evaluada por medio de nanopartículas semiconductoras.

Por:

M.E Karla Adriana Gaspar Ovalle

TESIS

Para obtener el Título de:

**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS ÁREA DE
REHABILITACIÓN BUCAL**

Aguascalientes, A.G.S

Septiembre 2010



Estudio de la microfiltración de adhesivos de quinta y séptima generación evaluada por medio de nanopartículas semiconductoras.

Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias Biomédicas Área de Rehabilitación Bucal presenta:

M.E Karla Adriana Gaspar Ovalle

Tutor:

Dr.C.O. David Masuoka Ito

Co- Tutores:

Biol. Keila Nelly Alvarado

M.C.O. Enrique Reyes Vela

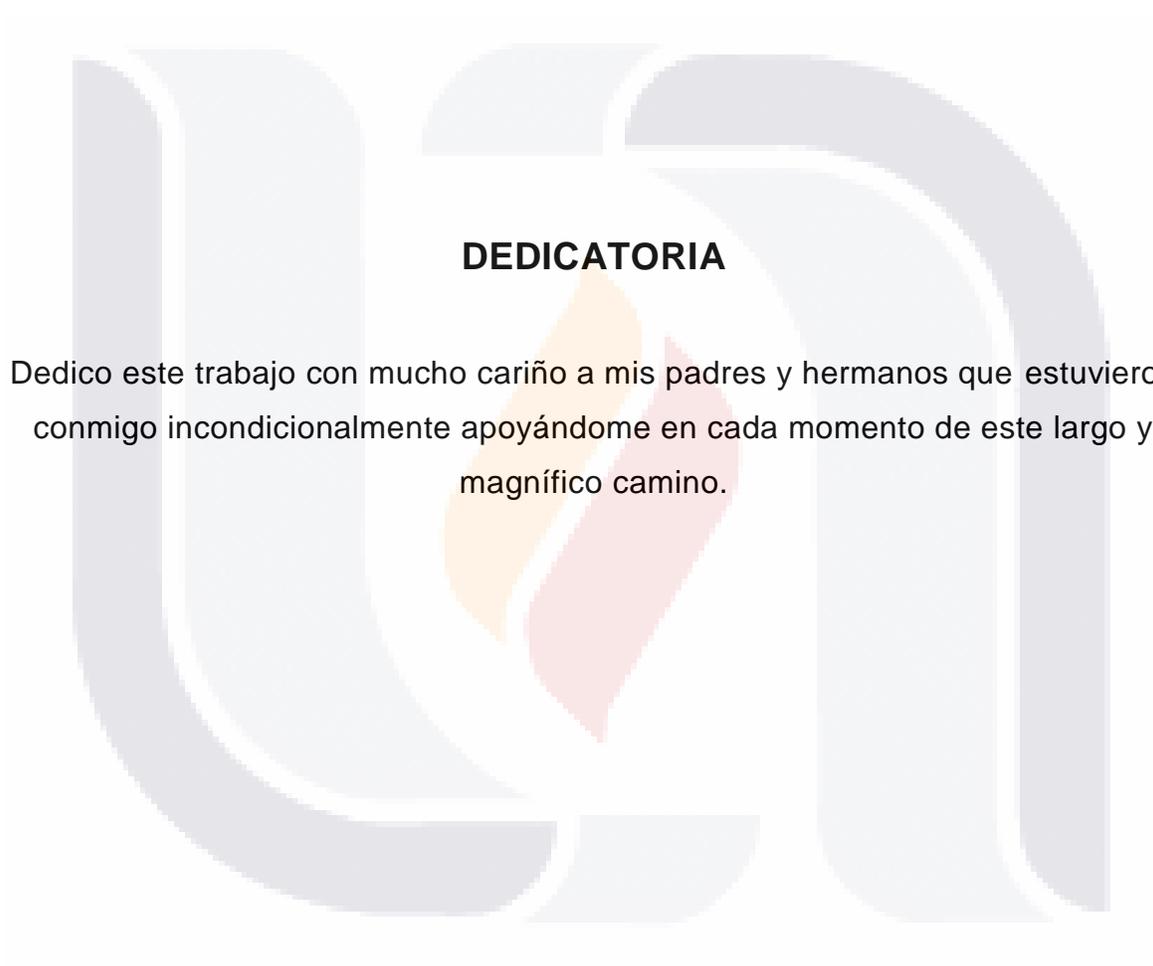
M.C.O. Paula Sánchez Robles

Dr. Amaury de Jesús Pozos Guillén

Dr. Héctor Flores Reyes

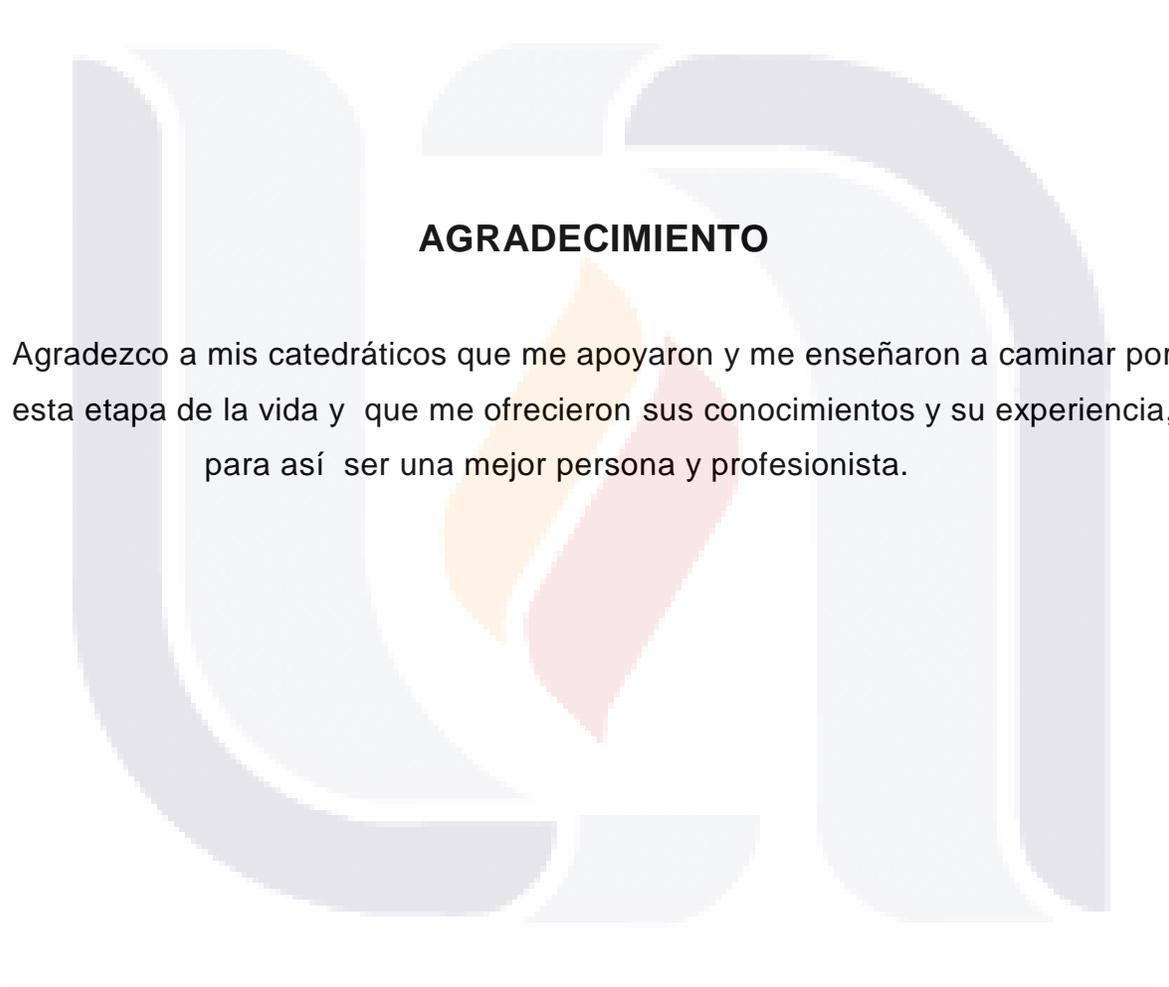
Aguascalientes, Ags.

20 de Septiembre del 2010



DEDICATORIA

Dedico este trabajo con mucho cariño a mis padres y hermanos que estuvieron conmigo incondicionalmente apoyándome en cada momento de este largo y magnífico camino.



AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis catedráticos que me apoyaron y me enseñaron a caminar por esta etapa de la vida y que me ofrecieron sus conocimientos y su experiencia, para así ser una mejor persona y profesionalista.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS
Departamento de Estomatología

Aguascalientes, Ags. a 15 de Septiembre de 2010

DR. ARMANDO SANTACRUZ TORRES
Decano del Centro de Ciencias de la Salud
PRESENTE

Por medio de la presente le informo que habiendo cumplido formalmente con el artículo 105-J y con los con fundamentos en el artículo 105-G, Fracción VII del Reglamento General de Docencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, hago constar que el trabajo de tesis denominado:

“Estudio de la microfiltración de adhesivos de quinta y séptima generación evaluada por medio de nanopartículas semiconductoras.”

Desarrollado por la C.D. Karla Adriana Gaspar Ovalle, pasante de la Maestría en Ciencias Biomédicas del Area de Rehabilitación Bucal, cumple satisfactoriamente con los requisitos vigentes, por lo que cuenta con mi consentimiento y apoyo para que sea presentado y defendido en el examen de titulación para la obtención del grado académico.

Sin más por el momento me despido de usted, agradeciendo de antemano sus atenciones, y no sin antes enviarle un afectuoso saludo.

ATENTAMENTE

Dr. C. O. DAVID MASUOKA ITO
Tutor Académico

c.c.p. C.D. Karla Adriana Gaspar Ovalle, Pasante de la Maestría en Ciencias Biomédicas en el Area de Rehabilitación Bucal
c.c.p. M.C.O. Enrique Reyes Vela, Coordinador de la Maestría en Ciencias Biomédicas en el Area de Rehabilitación Bucal
c.c.p. Dr. Uriel González Díaz, Jefe del Depto. De Estomatología
c.c.p. Archivo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES
Comemoración del Bicentenario del inicio de la Independencia de México
y del Centenario de la Revolución Mexicana

DR. ARMANDO SANTACRUZ TORRES
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD
PRESENTE

Por medio de la presente hacemos de su conocimiento que ha sido evaluado el trabajo de tesis titulado:

"Estudio de la microfiltración de adhesivos de quinta y séptima generación evaluada por medio de nanopartículas semiconductoras"

Que presenta la pasante **Karla Adriana Gaspar Ovalle**, para obtener el grado de Maestría en Ciencias Biomédicas: Área Rehabilitación Bucal, generación 2008-2010, se informa que el trabajo incorpora los elementos teóricos y metodológicos requeridos, así como la presentación formal de acuerdo a los requisitos solicitados.

Por lo anterior, se hace del conocimiento que el presente documento se encuentra **liberado** por parte del consejo académico del programa de posgrado para proceder a lo conveniente para realizar los trámites de titulación.

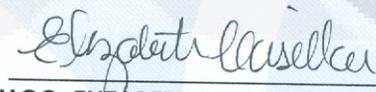
Sin otro particular por el momento nos despedimos enviando a usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"SE LUMEN PROFERRE"

Aguascalientes, Ags. 12 de Octubre 2010.


MCO. JAIME BERNAL ESCALANTE
SECRETARIO TÉCNICO DEL CONSEJO ACADÉMICO
DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS


MCO. ENRIQUE REYES VELA
COORDINADOR DEL ÁREA
REHABILITACIÓN BUCAL


MCO. ELIZABETH CASILLAS CASILLAS
SECRETARIA DE INV. Y POSGRADO
CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

ccp. Dra. Karla Adriana Gaspar Ovalle Pasante de la Maestría en Ciencias Biomédicas
ccp. Dr. C. O. David Masuoka Ito / Tutor de Trabajo de Tesis
ccp. Archivo.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES
Comemoración del Bicentenario del inicio de la Independencia de México
y del Centenario de la Revolución Mexicana

C. KARLA ADRIANA GASPAR OVALLE
PASANTE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
AREA REHABILITACIÓN BUCAL
PRESENTE

Por medio de la presente se le informa que en cumplimiento de lo establecido en el Reglamento General de Docencia en el Capítulo XVI y una vez que su trabajo de tesis titulado:

"Estudio de la microfiltración de adhesivos de quinta y séptima generación evaluada por medio de nanopartículas semiconductoras"

Ha sido revisado y aprobado por su tutor y consejo académico, se autoriza continuar con los trámites de titulación para obtener el grado de Maestría en Ciencias Biomédicas Área Rehabilitación Bucal

Sin otro particular por el momento me despido enviando a usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"SE LUMEN PROFERRE"

Aguascalientes, Ags. 13 de Octubre 2010.

DR. ARMANDO SANTACRUZ TORRES
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

ccp. C.P. Ma. Esther Rangel Jiménez/ Jefe de Departamento de Control Escolar
ccp. Archivo.

RESUMEN

Introducción: La utilización de sistemas adhesivos, se ha convertido en un procedimiento rutinario en la Odontología Restauradora. Una característica del material restaurador, es su adhesión a la estructura dental. Los Qdots son nanocristales fluorescentes de diferentes nanómetros de diámetro. **Objetivo:** Desarrollar un método in Vitro para la evaluación de microfiltración, basado en la utilización de Qdots como marcadores de filtración en dientes tratados con sistema de adhesivos de quinta y séptima generación con microscopía confocal. **Hipótesis:** Los adhesivos de quinta generación tienen menor microfiltración comparado con la séptima generación evaluada por medio de Qdots. **Metodología:** Se prepararon las muestras realizando una cavidad oclusal clase I. Se lavaron los dientes con agua destilada y se secaron. Se colocó el ácido grabador por 15 seg. Se lavaron y se secaron una vez más y se colocó el adhesivo. Se dividieron las muestras en 5 grupos. Después se realizaron termociclados, se colocaron los Qdots con los dientes durante 4 horas. Se seccionaron y analizaron al microscopio confocal. **Resultados:** Al realizar comparaciones entre los grupos de cada generación se obtuvo para los de séptima generación un 68.67% de ausencia de microfiltración y un 31.33% de microfiltración. En comparación con los de quinta generación se presentó 94% de ausencia de microfiltración y un 6% de microfiltración. Determinándose que existe diferencia estadística significativa entre ambos grupos ($p < .0001$). La microfiltración de las nanopartículas fue mayor para adhesivos de séptima generación. **Conclusiones:** Los Qdots es un método efectivo para evaluar la microfiltración. Los adhesivos de séptima generación al no requerir de la fase del grabado ácido, pueden afectar la formación de la interfase entre la dentina y el adhesivo y presentar mayor microfiltración en comparación con los adhesivos de quinta generación.

ÍNDICE GENERAL

Introducción.....	1
Capítulo 1.....	4
1.1 Planteamiento del Problema.	4
1.2 Justificación.....	6
Capítulo 2 Marco Teórico.....	8
2.1 Estructura del diente.....	8
2.2 Historia de la adhesión.....	9
2.3 Principios de adhesión.....	14
2.4 Sistemas Adhesivos.....	15
2.5 Clasificación de los Sistemas Adhesivos.....	16
2.5.1 Primera Generación.....	16
2.5.2 Segunda Generación.....	17
2.5.3 Tercera Generación.....	18
2.5.4 Cuarta Generación.....	19
2.5.5 Quinta Generación.....	19
2.5.6 Sexta Generación.....	20
2.5.7 Séptima Generación.....	20
2.6 Componentes Fundamentales de los Sistemas Adhesivos.....	21
2.7 Evaluación de la Calidad del Sellado de los Adhesivos.....	22
Capítulo 3.....	36
3.1 Hipótesis.....	36
3.2 Objetivos.....	37

Capítulo 4.....	38
4.1 Metodología.....	38
4.2 Variables Independientes.....	40
4.3 Variables Dependientes.....	41
4.4 Análisis Estadístico.....	41
4.5 Instrumentos de Medición.....	42
4.6 Materiales.....	42
4.7 Procedimiento.....	44
4.7.1 Preparación de las muestras.....	44
4.7.2 Preparación de los adhesivos de quinta generación.....	45
4.7.3 Preparación de los adhesivos de séptima generación.....	46
Capítulo 5.....	48
5.1 Resultados por grupo.....	48
5.2 Resultados por generación.....	48
5.3 Resultados por comparación de grupos.....	49
Discusión.....	53
Conclusiones.....	58
Anexos.....	59
Fotos.....	60
Glosario.....	68
Bibliografía.....	70

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Fig. 1 Esquema básico del modelo atómico de Bhor.....	31
Fig. 2 Propiedades Fluorescentes de los QD.....	32
Fig. 3 Longitud de onda de la luz fluorescente.....	32
Fig. 4 Selección de órganos dentarios.....	60
Fig. 5 Realización de cavidad en el órgano dentario.....	60
Fig. 6 Parámetros de la cavidad.....	61
Fig. 7 Colocación de ácido grabador en el órgano dentario.....	61
Fig. 8 Enjuagado y Secado del órgano dentario.....	62
Fig. 9 Aplicación del adhesivo.....	62
Fig. 10 Polimerización de adhesivo.....	63
Fig. 11 Colocación de resina.....	63
Fig. 12 Proceso de Termociclado.....	64
Fig. 13 Aplicación de Pintura de aceite y cera en el órgano dentario..	64
Fig. 14 Colocación de Qdots.....	65
Fig. 15 Observación en el Microscopio Confocal.....	65
Fig. 16 Microfiltración de Qdots en el grupo Adhese One.....	66
Fig. 17 Microfiltración de Qdots en el grupo Apter Easy One.....	66
Fig. 18 Microfiltración de Qdots en el grupo Excite.....	67
Fig. 19 Microfiltración de Qdots en el grupo Prime and Bond.....	67

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Tabla 1 Clasificación de los adhesivos.....	44
Tabla 2 Resultados de adhesivos de séptima generación.....	50
Tabla 3 Resultados de adhesivos de quinta generación.....	50
Tabla 4 Resultados de comparación de los adhesivos Adhese One y Excite	51
Tabla 5 Resultados de comparación de Apter easy one y Prime and Bond.....	51
Tabla 6 Resultados de comparación de todos los grupos de Adhesivos de acuerdo a la Microfiltración.....	52
Tabla 7 Serie de Termociclados.....	59





INTRODUCCIÓN

La utilización de sistemas de adhesión a dentina, se ha convertido en un procedimiento rutinario en la práctica diaria de la Odontología restauradora. Los avances tecnológicos constantes en cuanto a los materiales dentales restaurativos contemplan como una prioridad su capacidad y características en cuanto a la adhesión dentinaria, buscando con esto el desarrollar un material restaurador cada vez más conveniente e ideal. Al hablar de capacidad adhesiva a la estructura dental, nos referimos a la cualidad de estos materiales por formar una capa híbrida que se logra por la penetración de la resina a través de los nanoespacios que quedan entre las fibras de colágeno desnaturalizadas y expuestas por la acción del ácido en la superficie dentinaria, y que tras polimerizar, quedan atrapadas en ella. Es por tanto una estructura mixta formada por colágeno de la dentina y resina del adhesivo que encontramos tanto en la superficie de la dentina intertubular como en la entrada de los túbulos dentinarios. La importancia cuantitativa de esta microestructura en la fuerza de la adhesión a dentina de los adhesivos dentinarios ha sido sobradamente demostrada siendo más importante que la de los tags ¹.

La correcta formación y funcionamiento de esta etapa híbrida va a depender de dos factores:

1. Impregnación adecuada de las fibras de colágeno ².
2. Adecuado grosor de la capa de adhesivo que permita amortiguar en cierto modo las fuerzas que sobre el se van a ejercer ³.

Sin embargo, existen otros factores relacionados específicamente a las características de la estructura dental que intervienen en la adhesión, como la complejidad de su estructura histológica, la variabilidad en su composición, la

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

posición de la dentina en el diente, el tipo de dentina, la edad del diente. Por otra parte, el componente mineral de las estructuras del diente y las propiedades mecánicas de los adhesivos tienen un importante rol en la determinación de la resistencia en la adhesión ⁴.

Si se lograra una verdadera unión entre los materiales y las estructuras dentarias, se satisfarían tres objetivos:

1. Conservar más estructura sana del diente.
2. Conseguir retención óptima.
3. Evitar micro filtraciones.

El grado de adhesión de los materiales restauradores a la estructura dental es de suma importancia, ya que de esto dependerá la longevidad de la restauración, así como problemas relacionados con la filtración y retención de bacterias. El papel de las bacterias y de la microfiltración marginal en la restauración ocasiona la formación de caries, así como también desajuste en la unión del diente con el material restaurador y por lo tanto en ocasiones repercutir u ocasionar daños en el tejido pulpar ⁵. Por lo que uno de los puntos a considerar en el éxito de la técnica de sellado es de obtener y mantener la adaptación más íntima del adhesivo y del material restaurador sobre la superficie del diente y evitar la microfiltración ³.

Cuando los adhesivos son probados clínicamente, la efectividad de la adhesión de algunos materiales aparece dramáticamente baja, mientras que la adhesión de otros materiales es más estable ⁸. Para la evaluación de la calidad del sellado de los adhesivos, se han ideado diseños experimentales para medir de forma cualitativa y cuantitativa a través de la penetración a los túbulos dentinarios de colorantes, de isótopos radioactivos, de bacterias, entre otros. Sin embargo, aún muchos de éstos presentan variaciones o resultados contradictorios ^{6,7}.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

El uso de los colorantes en la evaluación de microfiltración, debe tomar en cuenta el tamaño molecular, pH, reactividad química, tensión superficial, efecto y afinidad de los colorantes a los tejidos dentarios.

La utilización de isótopos radioactivos se ve afectado por el tipo de isótopo, la distancia entre la fuente de radiación y la muestra, y los diferentes tiempos de exposición. Los isótopos radioactivos tienen un tamaño menor a las bacterias y pueden distribuirse de diferente manera, por lo que no han sido completamente aceptados⁹.

La técnica de filtración de fluidos permite evaluar la capacidad de un material para resistir la microfiltración, cuando se somete a cambios de presión¹⁰. Sin embargo, en estos estudios sólo se tiene en cuenta el grado de penetración de los fluidos al someterlos a presión sin utilizar modelos de penetración de bacterias que se asemejen más a la realidad. (Bates y col. 1996)

La microscopia fluorescente con aplicaciones en medicina, se ha considerado para implementarse como una alternativa confiable de evaluación de la microfiltración en los últimos años. Las nanopartículas semiconductoras con propiedades luminiscentes (QD), también conocidas como “Quantum dots”, son nanocristales fluorescentes de diferentes nanómetros de diámetro, debido a sus propiedades, tienen un gran potencial en biología celular y molecular. Son materiales que se han utilizado en nuevas aplicaciones como en imágenes biomédicas, dispositivos fotónicos, sensor de materiales, administración de fármacos y en la ingeniería tisular y en la evaluación de materiales dentales¹¹.

En este estudio se pretendió realizar una comparación de las características y diferencias de los adhesivos dentinarios, al igual que el estudiar y determinar la capacidad de los QD para emplearse como indicadores fluorescentes en la evaluación de la filtración de los adhesivos in vitro.

CAPÍTULO 1

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la amplia gama de productos dentales dedicados a la adhesión, es posible contar con una serie de biomateriales disponibles para un determinado objetivo llevado a la práctica clínica tanto pública como privada. Siendo de importancia para la práctica clínica del Departamento de Estomatología de la Universidad Autónoma de Aguascalientes el emplear materiales adhesivos de calidad y que cuente con características adecuadas. Por tal motivo es indispensable el poder crear métodos donde podamos evaluar las características de dichos materiales.

En la odontología restauradora se han realizado anteriormente, estudios acerca de selladores de fosetas y fisuras aplicados en molares temporales, evaluando la microfiltración y resistencia que existen en estos, utilizando como medio tinciones como el azul de metileno.

Actualmente se sabe que los adhesivos de quinta generación tienen buena capacidad adhesiva y que supera a las generaciones precedidas ¹². Sin embargo al aparecer en el mercado los primeros adhesivos autograbantes de séptima generación, claman tener características mejoradas en cuanto a la adhesión dentinaria en comparación con adhesivos de generaciones previas ⁴. Debido a su temprana aparición no existe mucha evidencia científica que nos permita afirmar con exactitud estas características, por lo que es necesario realizar varios estudios para confirmarlo.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Aunque los agentes de unión disponibles en la actualidad unen con efectividad las resinas compuestas a la dentina, pueden ser mejorados, cuando se manipulan bajo condiciones cuidadosamente controladas, la longevidad clínica de la resina adherida es tan buena como la de cualquier otro material usado en Odontología restauradora. En un estudio de 4^a “generación” Hashimoto ha demostrado que a lo largo del tiempo puede haber un desprendimiento gradual de la superficie dentinaria ⁷. Aunque en este estudio se realizó en dientes posteriores primarios, la misma conclusión puede ser extendida a dientes permanentes restaurados en razón de que el mecanismo de unión a colágeno y la formación de la zona de hibridación son similares para ambos tipos de dentición ¹². Es probable que una vez que se ha completado el proceso de descalcificación, el iniciador del agente de unión no alcanza a penetrar completamente en algunos de los espacios que quedaron vacíos entre las fibras de colágeno. Sin la protección de la hidroxiapatita natural o en su defecto del componente de resina del adhesivo, las fibras expuestas de colágeno simplemente sufren una degradación biológica ^{8,6}.

Hay otros factores que pueden afectar este nivel de penetración, tales como el reseca las paredes dentinarias o el dejar agua residual en la superficie, son condiciones que pueden frenar la penetración del iniciador en la dentina, sin embargo, un exceso del agente iniciador en la superficie puede tener el mismo efecto. Otra fuente potencial de una inadecuada difusión del adhesivo puede ser la vaporización prematura del solvente, alcohol o acetona, contenido en el agente de unión, así como también la presencia de la capa híbrida; y la técnica en la que se aplicaron los adhesivos.

Es importante conocer el método por el cual se va a realizar la evaluación. Para este estudio se contemplo la utilización de nanopartículas, ya que nos puede ayudar a observar la microfiltración que puede existir en la resina y el adhesivo de los órganos dentarios.

1.2 JUSTIFICACIÓN

Los adhesivos de quinta y séptima generación son los adhesivos más utilizados en la odontología contemporánea. El entender sus características y el grado de microfiltración y comportamiento sobre el diente es de gran utilidad para poder asegurar su buen uso en la práctica clínica.

Una gran diferencia entre los de adhesivos de quinta y séptima generación empleados en este estudio son las características y los métodos de utilización, siendo que los adhesivos autograbantes no requieren un paso de grabado por separado, ya que acondicionan, preparan el esmalte y la dentina simultáneamente sin la necesidad de enjuagar con agua, reduciendo así el tiempo de trabajo.

El conocer el grado de microfiltración que tienen los adhesivos de quinta y séptima generación por medio de QD, puede ofrecernos un entendimiento más amplio de los materiales que utilizamos en la práctica clínica. De igual manera, el determinar la capacidad de los QD para emplearse como indicadores fluorescentes en la evaluación de la filtración de los adhesivos y resinas in Vitro, así como considerar su utilización para futuros proyectos de investigación donde podamos utilizar este tipo de métodos.

El conocer las características y las diferencias entre los adhesivos dentinarios, es posible determinar con mayor claridad cual presenta una menor microfiltración, y así tratar de utilizar los mejores biomateriales adhesivos en la práctica clínica y reducir los posibles fracasos en los tratamientos que utilizan técnicas adhesivas para su función y éxito. Por otra parte, en este estudio se incluyeron materiales adhesivos actualmente utilizamos en las clínicas del Departamento de Estomatología de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, con los resultados

obtenidos en este estudio, se puede considerar y valorar la conveniencia y utilidad de estos materiales para continuar empleando el mismo o sugerir cambiar el adhesivo dentinario , y así continuar ofreciendo tratamientos de calidad y vanguardia a los pacientes que acuden a nuestra institución y de la práctica privada.



CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1. Estructura del diente

Los órganos dentales se encuentran constituidos por tres estructuras dentales; el esmalte, la dentina y la pulpa dental.

El esmalte es un tejido inerte, acelular, y duro que deriva embriológicamente del ectodermo y cubre la corona anatómica del diente. Contiene un 97% de material inorgánico, principalmente cristales de hidroxiapatita organizados en las varillas del esmalte y 3% de material orgánico y agua; es el tejido más altamente mineralizado que haya en el organismo. El contenido inorgánico tan alto en el esmalte hace que sea particularmente vulnerable a la desmineralización en el medio ácido creado por las bacterias, dando como resultado la caries dental y por lo tanto este tejido no pueda regenerarse posteriormente ¹³.

La dentina es la porción de tejido duro del complejo pulpo-dentinario y forma la masa principal del diente. Es un tejido conectivo especializado que soporta y compensa la fragilidad del esmalte dentinario, avascular, elástica y de color blanco amarillento que encierra una cámara pulpar central ¹³; está químicamente compuesta de un 70% de material inorgánico, 18% de material orgánico y 12% de agua; al igual que el esmalte el material inorgánico es principalmente hidroxiapatita y el compuesto orgánico colágeno tipo I y en menor cantidad colágeno tipo II y V, el contenido de colágeno le confiere la flexibilidad para amortiguar las cargas oclusales evitando la fractura del esmalte. Los principales componentes de la dentina son: Calcio y Fosfato. La dentina está compuesta por

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

un sistema de túbulos, cada uno de los cuales contiene fluido y está rodeado por dentina peritubular; la zona menos mineralizada y más fibrosa es la dentina intertubular. El área de dentina ocupada por los túbulos disminuye al alejarse de la pulpa, el número de túbulos disminuye de 45, 000 por mm² a 20, 000 por mm² hacia la pulpa en la unión dentina-esmalte. La dentina peritubular ocupa el 96% de área en la unión dentina- esmalte y un 12% cerca de la pulpa ¹⁴. Luego de la erupción se presenta una deposición dentinaria que varía entre 0.8 a 1.5 micras diarias; esta dentina recibe el nombre de dentina secundaria. El diente tiene la capacidad de responder ante algunos estímulos externos mediante la deposición de dentina reparativa, este tipo de dentina presenta algunos cambios tanto cuantitativos como cualitativos y ha recibido diferentes nombres en la literatura odontológica; entre los cuales se encuentra dentina celular, acelular, irregular, secundaria irregular, terciaria, reparativa, irritativa, de respuesta y reaccionaria. Sin embargo probablemente el término más adecuado sea el de dentina reparativa, propuesto en 1952 por Shorff ¹⁴.

En cambio la pulpa dental es el tejido conectivo blando que mantiene a la dentina. En la histología de la pulpa se pueden distinguir cuatro zonas: zona central (se denomina así de la parte central a la periferia, en donde se encuentran una gran cantidad de vasos y nervios), zona celular, zona de Weil o acelular y zona de la emplazada odontoblástica. Los principales tipos de células presentes en la pulpa son los odontoblastos, fibroblastos, macrófagos y linfocitos, embebidas dentro de la sustancia fundamental constituida por fibras colágenas (I y II), glucosaminoglucanos, ácido hialurónico, condroitín sulfato, glicoproteínas y agua ⁷. En donde la célula más distintiva de la pulpa dental, es el odontoblasto ¹³.

2.2 Historia de la Adhesión

El tratamiento restaurador de los dientes, en la actualidad se lleva a cabo, gracias a la interacción entre el material restaurador y la estructura dentaria, mediante el

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

uso de un sistema adhesivo, lo que permite que tanto mecánica como biológicamente, funcione el diente y su material restaurador como una unidad.

Uno de los primeros hallazgos odontológicos de los que se tiene conocimiento, se sitúa en las culturas precolombinas de incas y mayas entre el 300 y el 900 d. C., los cuales realizaban incrustaciones de piedras preciosas en incisivos superiores e inferiores, e incluso en primeros molares, siendo los principales minerales utilizados para fines la jadeíta, pirita, hematites, turquesa, cuarzo, serpentina, cinabrio, etc; que colocaban sobre dientes vivos, a los que previamente se les había perforado, mediante el uso de un taladro de cuerda que atravesaba el esmalte y llegaba a la dentina creando una cavidad, que era ocupada con mucha exactitud por la piedra, apreciándose en los hallazgos arqueológicos, la presencia de cementos a base de fosfato cálcico, no se sabe si fue utilizado para sellar o si formaba parte del abrasivo para taladrar.

En China se desarrollo en el XI S. d. C. una aleación de plata (“pasta de plata”) que sería utilizada hasta varios siglos después, ya que se menciona en textos de Su Kung (659 d.C.) en el periodo Ming y en las “Materias Médicas” de Lui Wen-tai en 1505. Dicha pasta se componía de 100 partes de mercurio, por 45 partes de plata y 900 de zinc. A principios del siglo XIX se empiezan a sellar los dientes con cemento de fosfato de zinc, siendo repuesto periódicamente por su incapacidad de adherirse al diente, lo que nos indica, que por lo menos hasta fines del siglo XIX, la odontología restauradora, se desarrollaba a expensas de nuevos materiales para cubrir las cavidades de los dientes careados pero no se había conseguido realizar una interacción entre estos y la estructura dental. Es a partir de que esta interrelación entre el diente y el material restaurador cuando se podría hablar del comienzo de la “Era adhesiva” en la odontología.

Para que la adhesión al diente se produjera eficazmente, se debía partir de un conocimiento exhaustivo de la estructura del esmalte y la dentina. Las investigaciones sobre agentes de unión para adherir resinas a la estructura dental

empezaron a principios de los años 1950. El primer intento en desarrollar un sistema adhesivo para unir resinas acrílicas a la estructura dental fue hecho por Hagger, un químico suizo que trabajaba para la compañía dental Amalgamated Dental Company en Londres y Zurich en el año 1949. Y así fue lanzado al mercado junto con una resina de curado químico para uso en restauraciones dentales.

En cambio los trabajos de Hagger y Buonocore permanecieron dominantes durante un largo periodo de tiempo debido a que los materiales restaurativos usados en los años 1950 estaban basados en metacrilatos de una relativa alta viscosidad que contenían monómeros libres y exhibían una alta concentración durante la polimerización, menos que las propiedades ideales para asegurar la adhesión a largo plazo a la estructura dental ⁴.

En 1952 los investigadores Kramer y Mc Lean del Eastman Dental Hospital, en Londres mostraron que el ácido glicerofosfórico dimetacrilato aumentaba la adhesión a la dentina penetrando la superficie y formando una capa intermedia, actualmente conocida como zona híbrida. Se describieron técnicas clínicas con el sistema sevitron en 1952 y fueron los primeros intentos para adherir resinas acrílicas de autocurado a la dentina usando el ácido glicerofosfórico como un grabador, el cual también proveía alguna forma de unión química.

En 1965, Bowen propone el primer adhesivo dentinario comercial, con una molécula, el NPG-GMA que tenía carácter bifuncional, de forma que el extremo del metacrilato se uniría a la resina compuesta como un material restaurador y el otro extremo se uniría a la dentina. Este adhesivo se comercializó como Cervident de la S.S: White. Los resultados clínicos a los 3 años mostraban un considerable 50% de fallos y más de la mitad de éstos tenía lugar en los primeros 6 meses de tratamiento. Las causas se atribuyen a las pobres propiedades de humectancia, cristalizando post-secado, lo que reduce la superficie disponible para la unión con la resina compuesta.

Los adhesivos aparecidos al final de los años 70, no eran realmente tal cosa. Aunque su fuerza de adhesión al esmalte era alta, su adhesión a la dentina era lastimosamente baja, típicamente no mayor a los 2 Mpa generalmente todas las generaciones de adhesivos se unen bien a la estructura microcristalina del esmalte, el principal problema para el dentista es la fuerza de unión a la dentina, tejido semiorgánico. La unión se buscaba por la quelación del agente adhesivo con el calcio componente de la dentina; si había penetración tubular, ésta contribuía poco a la retención de la restauración. Era común observar el despegamiento de la interfase dentinal en pocos meses. Estos adhesivos se indicaban primariamente para cavidades pequeñas, con retención, de clases III y V. La sensibilidad postoperatoria era común cuando estos agentes eran usados para restauraciones oclusales posteriores ¹⁰.

Al tener conocimiento de la historia de los adhesivos, es necesario comprender también la ciencia de los materiales dentales teniendo un conocimiento básico de su estructura atómica o molecular y su comportamiento durante su manipulación y aplicación intraoral. Los factores ambientales son muy determinantes en el éxito clínico, por lo que debe extrapolarse la información in vitro a la situación clínica con mucha precaución. Existen distintos enlaces que se relacionan con los adhesivos:

- Enlaces interatómicos primarios: Las fuerzas que unen a los átomos se denominan fuerzas de cohesión. Estos enlaces interatómicos pueden ser primarios o secundarios. La fuerza de estos enlaces y su capacidad para volver a formarse tras su ruptura determinan las propiedades físicas de un material. Los enlaces primarios pueden ser de tres tipos: 1) iónicos, 2) covalentes, 3) metálicos.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

- Enlaces interatómicos secundarios: En comparación con los enlaces primarios, los secundarios no comparten electrones. En su lugar, las variaciones en las cargas entre las moléculas o grupos de átomos provocan fuerzas polares que atraen a las moléculas.

- Enlace de Hidrógeno: El enlace hidrógeno puede entenderse al estudiar la molécula de agua. Dos átomos de agua de hidrógeno se unen al átomo de oxígeno. Estos enlaces son covalentes, ya que los átomos de oxígeno e hidrógeno comparten electrones. El enlace hidrógeno, que se asocia con la carga positiva del hidrógeno provocada por la polarización, es un buen ejemplo de este tipo de enlace secundario. Cuando la molécula de agua se entremezcla con otras de agua, el hidrógeno (la parte positiva) de una molécula es atraída por el oxígeno (la parte negativa) de la molécula adyacente, formando puentes de hidrógeno. Esta polaridad es importante a causa de las reacciones intermoleculares de muchos compuestos orgánicos, como la absorción de agua por parte de las resinas dentales sintéticas.

Es importante hablar de las fuerzas de Van der Waals, las cuales constituyen la base de la atracción bipolar. Por ejemplo, en una molécula simétrica, como un gas inerte, el campo del electrón fluctúa constantemente. En general, los electrones de los átomos se distribuyen equitativamente alrededor del núcleo y producen un campo electrostático alrededor del átomo. Sin embargo, este campo puede fluctuar, por lo que la carga es alternativamente positiva y negativa. Por tanto, se crea un dipolo fluctuante que atraerá otros dipolos similares. Estas fuerzas interatómicas son bastante débiles.

2.3 Principios de Adhesión

La adhesión es el mecanismo que une dos materiales distintos en un contacto íntimo a lo largo de una interface. En cambio la cohesión es cuando se atraen moléculas del mismo material. El material o película empleado para la adhesión se denomina adhesivo y el material al que se le aplica es el adherente. En la adhesión se abarcan tres diferentes mecanismos:

- Adhesión química: Que está basada en fuerzas de valencia primaria tales como enlaces covalentes, iónicos o uniones metálicas.
- Adhesión Física: Se basa en fuerzas de valencia secundarias. Tales fuerzas de atracción ocurren en dipolos moleculares (fuerzas de Van der Waals) en la interacción de dipolos inducidos (fuerzas de dispersión London) y en la interacción de nubes de electrones (uniones de hidrogeno).
- Adhesión Mecánica: La fuerte unión de una sustancia a otra se puede producir también por una unión mecánica o retención y no por la atracción molecular. La unión mecánica supone mecanismos más sutiles, como la penetración del adhesivo en irregularidades microscópicas o sub microscópicas en la superficie del sustrato. Para este procedimiento es mejor un adhesivo fluido o un adhesivo ligeramente viscoso, porque penetra en estos defectos superficiales proporcionando el anclaje para la unión mecánica ¹⁰.

Existen dos factores que externos que intervienen en el mecanismo de la adhesión:

- Energía superficial: Es el aumento en la energía por unidad de área de la superficie. En la adhesión, las interfaces de las superficies deben atraerse entre sí. Esta situación se da independientemente de las fases (sólida, líquida o

gaseosa) de las dos superficies. La energía de la superficie de un sólido es muy superior a la de su interior. Los átomos superficiales de un sólido tienden a formar uniones con otros átomos próximos a la superficie y reducen la energía superficial del sólido que es lo que ocurre en la adhesión.

- *Humectación:* Es difícil forzar la unión de dos superficies sólidas. Cuando se ponen juntas solo están en contacto los picos o asperezas, no se produce ningún tipo de adhesión perceptible, ya que estas suelen constituir solo un pequeño porcentaje de la superficie total. Un método para solventar esta dificultad es emplear un fluido que se introduce en estas irregularidades para que haya más contacto entre una mayor parte del sólido. Para producir adhesión de esta manera, el líquido debe fluir fácilmente por toda la superficie y adherirse al sólido. Esta característica recibe el nombre de humectación. El ángulo de contacto en cuanto a la humectación, se refiere a que cuando al medir el ángulo de contacto entre el adhesivo y el adherente se puede determinar hasta que punto un adhesivo humecta la superficie de un adherente. Si las moléculas del adhesivo son atraídas por las del adherente, el adhesivo se extenderá completamente sobre la superficie del sólido, y no se formara ningún ángulo de contacto (0 grados). Por tanto las fuerzas de adhesión son más fuertes que las de cohesión, que unen las moléculas del adhesivo. El ángulo de contacto es un buen indicativo de la humectación debido a que aumenta la tendencia del líquido a extenderse al disminuir el ángulo de contacto. Con un ángulo de contacto de 0 grados se produce la humectación. Cuanto menor sea el ángulo de contacto entre el adhesivo y el adherente, más capacidad tendrá el adhesivo para fluir y cubrir las irregularidades de la superficie del adherente ¹³.

2.4 Sistemas Adhesivos

Los adhesivos son materiales que fueron desarrollados para mejorar la unión entre los compuestos restaurativos a base de resina y la dentina. Estos materiales a base de resina parecen sellar herméticamente la interfase existente entre el

material restaurador y las paredes de la cavidad eliminando de este modo la posible microfiltración, pigmentación marginal, caries secundaria y por consiguiente respuestas pulpares del tipo inflamatorio. Los requisitos de un adhesivo son:

1. Baja tensión superficial
2. Baja viscosidad
3. Estabilidad dimensional
4. Propiedades mecánicas adecuadas: para resistir fuerzas de masticación
5. Hidroresistentes

2.5 Clasificación de los sistemas adhesivos

Los adhesivos han aparecido, y continúan haciéndolo de manera tan abundante y frenética que, particularmente a partir de mediados de la década de 1970, los fabricantes ingeniosamente optaron por promocionar sus productos calificando a cada uno de ellos como el de última generación.

2.5.1 Primera Generación

Uno de los primeros intentos para lograr adhesión a dentina fue hecho por Michael G. Buonocore, a principios de 1950, utilizando ácidos más débiles para el acondicionamiento del sustrato. El grabado ácido duplicaba la cifra de adhesión, comparándola con dentina sin acondicionamiento previo. La resistencia a la unión de esta técnica fue de entre 2 y 3 Mpa, pero descendiendo considerablemente en cuanto entraba en contacto con agua.

Con el desarrollo de materiales con base de unión a resinas compuestas utilizando glicidil metacrilato, se pensó en buscar la unión a dentina en el extremo opuesto de la cadena del metacrilato utilizando NPG.

El principal problema con estos materiales era su inestabilidad y su sensibilidad a la presencia de humedad junto con una gran contracción a la polimerización. El agente adhesivo generalmente polimerizaba antes de obtener una unión con el material restaurador.

2.5.2 Segunda Generación

A principios del año de 1970 se da a conocer la segunda generación de adhesivos es cuando se empiezan a reconocer como sistemas adhesivos a esmalte y dentina. Se basaba en la reacción fosfato/calcio, (unión iónica) pero utilizando una resina dimetacrilato en el adhesivo, en lugar de las resinas BIS-GMA utilizadas con los sistemas previos.

Los sistemas adhesivos de las dos primeras generaciones, utilizaban agentes hidrófobos diseñados para promover una unión iónica a la hidroxiapatita como principal componente de la capa de detritus dentinaria. Esta generación pretendía superar las limitaciones de sus predecesores adhiriéndose químicamente a la dentina y al smear layer. Sin embargo sus niveles de adhesión solo alcanzaban los 4 ó 5 Mpa (LEINFELDER 1993).

2.5.3 Tercera Generación

En la primera mitad de la década de 1980 apareció la llamada tercera generación, cuya novedad consistía en la adición de monómeros hidrófilos, principalmente HEMA, lo que les permitió lograr niveles de adhesión cercanos a 10 Mpa (LEINFELDER, 1993) ¹⁵.

La utilización de imprimadores (primers) para la preparación de la superficie de la dentina para obtener una mejor humectación del adhesivo, fue uno de los avances más importantes registrados en esta generación de adhesivos.

Los imprimadores, hasta cierta forma son ácidos débiles o una mezcla de ácidos a baja concentración, pero con la suficiente capacidad para remover, alterar, o modificar la capa de detritus que se localiza sobre la superficie de la dentina.

Dentro de la misma composición de los imprimadores, se encuentran también componentes a base de resina, que son activados por medio de una fuente de luz, para interactuar después del efecto del ácido sobre la dentina.

El efecto del ácido puede abrir pequeños defectos o microfaturas en la superficie de la dentina, para que la resina pueda infiltrar al sustrato dentinario formando numerosas proyecciones por debajo de la superficie de la dentina para proporcionar una retención mecánica resistente. Los imprimadores, compuestos con monómeros hidrofílicos, son utilizados después del acondicionamiento de la dentina con agentes ácidos débiles, que se encargan de remover o alterar la capa de detritus dentinaria y preparar el sustrato dentinario.

2.5.4 Cuarta Generación

A partir de 1990, aparece esta cuarta generación en donde se menciona que como parte del efecto de los agentes a base de ácidos débiles, se debe de obtener también la exposición de la dentina intertubular y peritubular.

La aplicación de imprimadores con monómeros hidrofílicos se utiliza para facilitar la penetración de la dentina descalcificada que permita embeber una superficie entre 1 a 5 micras dentro de la dentina acondicionada para mantener la red de colágena abierta. Este paso impide que la colágena se colapse y permite que la resina adhesiva penetre efectivamente en la filigrana de la dentina descalcificada.

Los sistemas adhesivos de esta generación demostraron resultados más homogéneos y valores de 12 a 22 Mpa.

2.5.5 Quinta Generación

A mediados de la década de 1990 se popularizó el grabado total, y se dio a conocer la Quinta Generación de Adhesivos. El objetivo principal de estos sistemas adhesivos fue consolidar la formación de la capa híbrida y la búsqueda de adhesión química, pero con la idea de la simplificación de la técnica. La idea de simplificar la técnica, se basa principalmente en buscar hacer esta técnica menos sensible y más rápida en obtener la adhesión, con un menor número de pasos clínicos.

La mayoría de los sistemas adhesivos de la quinta generación, utilizaban el grabado o acondicionamiento simultáneo de la dentina y el esmalte (grabado total) y el sistema de “una botella” que contiene el imprimador y la resina adhesiva juntos y que se aplicaba después del grabado en un solo paso. Algunos sistemas incorporaron pequeñas cantidades de partículas de relleno, para dar más

consistencia a la resina adhesiva. Inicialmente los fabricantes recomendaban limitar el acondicionamiento ácido solo al esmalte, por su renuencia a aceptar el grabado total, pero ante los niveles de adhesión superiores a los 25 ó 30 Mpa que se alcanzaron con el acondicionamiento ácido de la dentina y a la constatación clínica de que su uso prudente no ocasiona injuria pulpar, finalmente fue vencida dicha resistencia y consecuentemente desde mediados de la década de 1990 se popularizó el grabado total, tanto con los citados sistemas así como con los denominados de quinta generación, los mismos se diferencian de los de cuarta generación en que su manejo es más simplificado, porque en lugar de los tres compuestos de sus predecesores constan de solo dos: el acondicionador en un envase (generalmente una jeringa) y el primer junto con el agente adhesivo en un segundo envase.

2.5.6 Sexta Generación

Estos productos surgen en 1999, los cuales se identifican por haber unido en un solo compuesto la triada: acondicionador, primer y agente adhesivo, aunque en realidad esa unión solo se produce en el momento de su aplicación, puesto que se presentan ya sea en “blisters” de dos cámaras, en dos frascos, o en el caso del último en un frasco, cuyo contenido líquido debe ser mezclado al momento de aplicarlo con el indicador que ha sido impregnado en torundas de esponja.

2.5.7 Séptima Generación

A fines del 2002 fue dado a conocer el producto iBond (Kulzer), publicitado como el primero de los de séptima generación, pues aunque es muy semejante a los de sexta, presenta este sí todos sus ingredientes en un solo frasco y obviamente prescinde de toda mezcla.

Una técnica denominada autoacondicionamiento o autograbado que pretende reducir la profundidad de la capa desmineralizada para favorecer una penetración

completa del adhesivo en la capa desmineralizada de la dentina inició una tendencia que se acentuó con la fabricación de los sistemas de sexta y séptima generación, en los que el autograbado se plasma por la aplicación de todo el sistema en un solo acto, en este caso los sistemas son denominados autocondicionadores.

2.6 Componentes Fundamentales de los Sistemas de Adhesivos

Algunos de los componentes fundamentales de los sistemas adhesivos son:

- Agente Grabador
- Resinas Hidrófilas
- Resinas Hidrófobas
- Activadores
- Relleno Inorgánico
- Disolventes

Agente Grabador: Su función es eliminar el barrillo dentinario y desnaturalizar y coagular los haces de colágeno para permitir la infiltración de la resina hidrófila. Los más usados son los ácidos fuertes como el ácido ortofosfórico al 37%, también se utilizan algunos ácidos débiles como el ácido maleico; y actualmente se han introducido en el mercado resinas acídicas que actúan como grabadores en los adhesivos autograbantes.

Resinas Hidrófilas: Son las encargadas de conseguir la unión a la dentina impregnando la fibras colágenas y formando la capa híbrida, aprovechando la humedad de la dentina. Entre estas resinas hidrófila tenemos PENTA, HEMA, BPDM, TEG-DMA, GPDM o 4-META. Presentan dos terminaciones, una hidrófila con radicales OH y COOH, que gracias a su afinidad por el agua facilitan la penetración a la dentina húmeda. La otra terminación es hidrófobo, con

terminaciones del tipo HC=CH, cuyo doble enlace al romperse permite la unión con otro doble enlace así mismo roto que existe en la resina hidrófoba del adhesivo, el bond. Las resinas hidrófilas con sus solventes (acetona, alcohol o agua) forman el primer ¹⁵.

Resinas Hidrofóbas: Son las primeras que se usaron en los materiales adhesivos. Es una resina fluida hidrofóba, como el Bis-GMA que actúa como intermediario entre el primer y el material restaurador. Tiene por objeto recubrir por completo la resina hidrófila y unirla a la resina compuesta, también tiene la función de conseguir que la capa de adhesivo tenga un grosor adecuado para que la interface dentina-resina soporte el estrés mecánico al que será sometida ¹³.

Activadores: Son los encargados de desencadenar la reacción de polimerización. Básicamente existen dos tipos, los fotoactivadores y los quimioactivadores. En algunos sistemas ambos tipos de activadores se encuentran asociados, tal es el de los adhesivos de fraguado total.

Relleno Inorgánico: Este componente no aparece en todos los adhesivos. Consiste en partículas de nanorelleno, tan diminutas que logran penetrar hasta alcanzar la capa híbrida. Los adhesivos con nanorelleno presentan una menor contracción de polimerización, y además sus propiedades mecánicas son superiores respecto a un adhesivo sin relleno ¹⁵.

Disolvente: Es un vehículo del producto. En los adhesivos es uno de los componentes fundamentales para conseguir una adhesión apropiada logrando una capa híbrida. Los disolventes utilizados en los sistemas adhesivos son: agua, etanol y acetona.

La Acetona es un solvente que se evapora con mucha facilidad y consigue eliminar por evaporación el exceso de agua. Sin embargo es incapaz de reflotar las fibras colágenas colapsadas cuando el sustrato está más seco. Por lo que no

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

es muy accesible en situaciones de dentina seca. En cambio el agua es un componente que no funciona de manera adecuada en situaciones de exceso de agua, pero es mejor en casos de dentina seca ya que es capaz de reflatar las fibras de colágeno y por tanto útil en dentina seca. Por otro lado el etanol es un alcohol es bastante volátil pero no tanto como la acetona, su comportamiento es intermedio entre los dos anteriores.

Hay adhesivos que contienen dos o tres de estos solventes y por ello cada adhesivo va a tener distinto comportamiento ¹³.

2.7 Evaluación de la calidad del sellado de los adhesivos

Se han ideado diseños experimentales para medir de forma cualitativa y cuantitativa la penetración de los adhesivos a los túbulos dentinarios, tales como, penetración de colorantes, uso de isótopos radioactivos, penetración bacteriana entre otros, sin embargo, muchos de éstos presentan variaciones o resultados contradictorios o resultan dudosos ^{6,7}.

Isótopos radioactivos

Los isótopos radiactivos son compuestos que contienen formas radiactivas de átomos. A diferencia de las radiografías convencionales o computarizadas, en estudio con isótopos la radiación (rayos gamma) se origina en un radiofármaco (material marcado con un isótopo radiactivo) en el cuerpo. Para su detección se usa una cámara especial cerca del área de interés durante un periodo de tiempo. Cuando se observan suficientes rayos gamma, una computadora crea una imagen que ubica la localización exacta del isótopo dentro del órgano en que se encuentra. Haikel en el 2000 menciona que el uso de isótopos radiactivos en evaluaciones de microfiltración apical ofrece una partícula de tamaño más

pequeño, por lo que su difusión es más rápida que la observada con el uso de tinciones. El punto crítico de este tipo de evaluaciones, es que se ven afectadas por el tipo de isótopo, la distancia entre la fuente de radiación y la emulsión, y los diferentes tiempos de exposición. Los isótopos radiactivos también son más pequeños que las bacterias y pueden distribuirse de diferente manera ¹⁶. Generalmente, la energía originada por la radiación gamma es similar a la de los rayos X, por lo que existe una posibilidad de daño celular y mutaciones hereditarias en óvulos y espermatozoides. Cuanto mayor sea la dosis y el número de exposiciones, mayor será el riesgo. Los materiales radiactivos se descomponen liberando energía y transformándose en átomos no radiactivos, en proporciones específicas a medida que el cuerpo los va eliminando de manera continuamente. Esta filtración se lleva a cabo usualmente en pulmones, riñones e hígado.

El uso de isótopos radioactivos se ve afectado por el tipo de isótopo, la distancia entre la fuente de radiación y la muestra, y los diferentes tiempos de exposición. Los isótopos radioactivos tienen un tamaño menor a las bacterias y pueden distribuirse de diferente manera, por lo que no han sido completamente aceptados.

Filtración de fluidos

La técnica de filtración de fluidos permite evaluar la capacidad de un material para resistir la microfiltración, cuando se somete a cambios de presión ¹⁷. La medición del filtrado refleja la totalidad de la filtración acumulada en la interfase restauración-dentina ¹¹ y en consecuencia aporta información con valor cuantitativo ¹⁸. Sin embargo, en estos estudios sólo se tiene en cuenta el grado de penetración de los fluidos al someterlos a presión sin utilizar modelos de penetración de bacterias que se asemejen más a la realidad. (Bates y col. 1996).

Cobankara y cols. en el 2002, evaluaron de manera cuantitativa la filtración apical de cuatro selladores apicales. Los selladores evaluados fueron AH Plus, RoekoSeal, Ketac Endo y Sultan. Los resultados de su estudio indicaron que el RoekoSeal con la técnica de condensación lateral fría, fue la que mostró mejores resultados. Wu y cols. en 1994 realizaron un estudio en el que compararon los métodos de filtración de fluidos y el de penetración de tinciones. Siendo el transporte de fluidos el método que detectó más de espacios a lo largo del sistema de conductos.

Penetración de colorantes

La penetración de colorantes para la evaluación de microfiltración apical, es un método muy usado, se basa en la medición lineal de la penetración del colorante entre el material restaurador y las paredes de la cavidad ¹⁹. El uso de los colorantes en la evaluación de microfiltración, debe tomar en cuenta el tamaño molecular, pH, reactividad química, tensión superficial, efecto y afinidad de los colorantes a los tejidos dentarios ¹².

Como se ha reportado en estudios previos en el uso de colorantes existen muchas variables, que dependen directamente de la experiencia del operador, diferencias en las técnicas experimentales, periodos de exposición de los colorantes, burbujas de aire atrapadas y el tipo de medición utilizado ²⁰, además no nos dan una similitud con la clínica, sus métodos son estáticos y no dinámicos como sucede en los tejidos in vivo, por consiguiente, no se pueden extrapolar a la realidad. Además, las características físico-químicas de los colorantes difieren de las presentadas por los fluidos corporales, y las condiciones propias del medio apical no pueden ser reproducibles.

Cabe mencionar que Spangberg y cols. Proponen el uso de vacío para evitar el atrapamiento de burbujas de aire y así controlar esta variable ²¹. Las burbujas, crean espacios ocupados por aire, que no pueden ser penetrados

adecuadamente, al utilizar el vacío, estos espacios con aire se reducen de manera significativa y permite una mejor fluidez de los colorantes por todo lugar en el que pueda tener acceso alcanzando así una mejor penetración de los colorantes.

Se han utilizado la hematoxilina, verde brillante, nitrato de plata, azul de metileno y tinta china ²². Para el uso de colorantes, hay que tomar en cuenta el tamaño molecular, pH, reactividad química, tensión superficial, efecto y afinidad de los mismos a los tejidos dentarios ⁹. De acuerdo a lo reportado por Ahlberg, el tamaño molecular no debe ser muy pequeño, debido a que los resultados de penetración serán mayores que lo que realmente penetran las bacterias, pero es importante mencionar que a menor tamaño, más similitud en este punto a toxinas bacterianas. El pH no puede ser ácido porque puede producir un efecto desmineralizante que ayude a la penetración del ácido. La tensión superficial es un punto discutible, debido a que de ser muy baja la penetración sería mayor y de ser muy alta, la penetración tardaría varios días, por lo que se busca sea similar a la de los fluidos corporales.

Tinción de azul de metileno

La tinción de azul de metileno tiene un pH de 4.7, tamaño molecular pequeño, molécula muy volátil, evaporación a las 72 horas, tensión superficial muy baja y tiene un efecto desmineralizante sobre el tejido; en los análisis por vacío, no se puede definir si la penetración fue por sí mismo o por los efectos que pueda tener en el tejido. Al emplearse conjuntamente con la técnica de diafanización, el azul de metileno tiende a perderse al estar en contacto con las sustancias empleadas durante la diafanización ²². Howard, Hession y Adamo mencionan que tanto, la tinta china es un colorante estable aún en la diafanización, tiene pH neutro, es de molécula grande y de tensión superficial alta; sin embargo, debido a su gran tamaño molecular y a su alta tensión superficial su penetración dura alrededor de 15 días ^{23,5,24}.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Ahlberg en 1995 determinó que existe diferencia al emplear azul de metileno y tinta china en la evaluación de penetración de las tinciones, y encontró que el azul de metileno tiene más variaciones que la tinta china, como su pH ligeramente más ácido, tamaño molecular pequeño, mayor volatilidad, baja tensión superficial, mencionando las más importantes ²⁰. La tinta china por su color negro, permite mayor visibilidad en una muestra diafanizada ²⁴.

Seccionado y desgaste de las muestras

El seccionado de las muestras para la observación directa de la penetración, es otra forma de evaluación, pero no es un método adecuado debido a que no permite una evaluación tridimensional de la muestra por la deformación que sufre su anatomía al ser seccionado ²⁴. Aunado a esto, en el momento en que entra en contacto el objeto cortante con diente, éste sufre fracturas, el material de obturación se desgarrar, la acumulación de polvo producido por el corte interfiere con los posibles espacios existentes, así como en la clara y limpia visualización de los indicadores que habían penetrado. De lo anterior, la confiabilidad de los resultados es cuestionable.

El desgaste es otro método en el cual se puede visualizar el interior de la muestra directamente, mediante el pulido se obtiene una mayor regularidad en el corte, el material de obturación no se desgarrar tanto como en el corte. Es necesario emplear discos de grano muy fino al llegar a las últimas fases del procedimiento para modificar lo menos posible la muestra. Al realizar este procedimiento, se pierde la mitad de la muestra por el desgaste.

Penetración bacteriana

La penetración bacteriana, consiste en previa esterilización de la muestra y posteriormente, la exposición a bacterias específicas. La evaluación se basa en la determinación de la presencia y/o crecimiento de las mismas, así como de sus toxinas. Este método es más importante desde el punto de vista clínico que los antes mencionados, tiene limitaciones también, como el uso de muy pocas especies bacterianas, cuando en cavidad oral existen más de 300 especies de flora mixta bacteriana transitoria y 30 de especies comensales. “In vivo” hay numerosas especies que generan una gran respuesta en el huésped correspondiendo a factores muy significativos que no pueden ser medidos “in vitro”¹⁶. Otro punto débil de estos métodos en la evaluación de la microfiltración apical, es que el poder bactericida o bacteriostáticos que pueden tener algunos cementos selladores, afecta directamente el comportamiento bacteriano.

Evaluación radiográfica

La evaluación radiográfica se ha mencionado también para valorar la calidad del sellado, pero esto es realmente imposible, debido a que la filtración se da a nivel molecular, lo cual no puede ser determinado con los datos reportados en la radiografía, sin embargo, puede dar información en cuanto a la calidad de la condensación solamente.

Para la evaluación de la microfiltración, como ya se mencionó, se han propuesto gran variedad de técnicas, pero en la mayoría de ellas se encuentran puntos contradictorios, lo cual hace difícil obtener resultados confiables, fáciles de reproducir o que se acerquen lo más posible a la realidad.

Microscopia fluorescente

La microscopia fluorescente con aplicaciones en medicina, se ha considerado para implementarse como alternativa confiable en la evaluación de la microfiltración de materiales restaurativos. Esta microscopia fluorescente es un fenómeno físico que resulta de la interacción de los electrones de las últimas capas atómicas con la radiación electromagnética (luz). Una de las aplicaciones de las moléculas fluorescentes es que absorben la luz de una determinada longitud de onda y emiten luz de otra longitud de onda más larga. Si un componente de este tipo es iluminado a su longitud de onda absorbente y visualizado a través de un filtro que sólo permita pasar la luz de longitud de onda igual a la de la luz emitida, el componente aparece brillante sobre un fondo oscuro. La intensidad y el color de la luz es una propiedad característica de la molécula fluorescente utilizada.

Existen múltiples microscopios que basan su funcionamiento en el fenómeno de la fluorescencia como el microscopio de Fluorescencia, el Confocal y el multifotón.. El Microscopio Confocal permite capturar planos ópticos de la muestra de forma que luego se pueda hacer una reconstrucción tridimensional de esta. Los elementos que lo diferencian de un Microscopio Convencional son el Láser y Pinhole. El láser es una luz monocroma y por lo tanto excita específicamente. Hay un láser por cada canal de color. El Pinhole es un pequeño agujerito delante del detector que impide que la luz pase procedente de otros planos distintos al de interés. Por lo que el Microscopio Confocal presenta ciertas ventajas en comparación con los otros microscopios (Fluorescencia y el Multifotón) como es la excitación por medio de láser monocromo que en el confocal hace que los fluorocromos se exciten secuencialmente por lo que hay poco cruce de un canal de color a otro, al contrario de lo que sucede en un microscopio de fluorescencia, donde se selecciona, de todos los colores que emite la bombilla, el color de excitación adecuado mediante filtros ópticos más o menos eficientes. Otra ventaja del microscopio confocal es que permite una perfecta localización, en un microscopio de fluorescencia, la luz procede del plano focal se mezcla con la luz

borrosa que precede de otros planos, lo que no permite asegurar que dos puntos coincidan (colocalicen) o simplemente estén en la misma proyección vertical. El dispositivo pinhole del confocal permite capturar la luz que procede de un solo plano, con lo que si existe colocalización, está es real. Algunas de la desventajas del Microscopio confocal es que la adquisición de imágenes emplea más tiempo que la captura por fluorescencia, ya que el láser emplea un tiempo en el barrido. Otra es que el láser provoca citotoxicidad debido a que genera radicales libres. Así como también el confocal capta, gracias al pinole, solo la luz que procede de un plano, pero el láser ilumina, y por tanto va apagando, todo el grosor de la muestra.

En la microscopia fluorescente con aplicaciones biológicas existen dos problemas comunes, la presencia de células auto fluorescentes en el espectro visible, lo cual oculta las moléculas marcadoras, así como la necesidad de observaciones a largo plazo. Uno de los elementos que cumplen con los requisitos principales para la evaluación de materiales dentales por medio de la fluorescencia son las nanopartículas (NP) semiconductoras que tienen propiedades luminiscentes (QD), son nanocristales fluorescentes de diferentes nanómetros de diámetro, debido a sus propiedades, las cuales pueden ser observadas por el microscopio confocal y así como también tienen un gran potencial en biología celular y molecular ²⁵.

Nanopartículas Semiconductoras

Las nanopartículas semiconductoras (NP), también llamadas “Quantum Dots” (QD) por sus propiedades ópticas, están siendo utilizadas en un amplio número de campos de la ciencia, y la medicina no es la excepción.

Actualmente se han desarrollando nanodispositivos ópticos, eléctricos y magnéticos para la detección de moléculas específicas en sistemas biológicos incluyendo organismos vivos. Estos nuevos dispositivos son capaces de detectar

la presencia de una sola molécula dentro de una célula y poseen la habilidad de diferenciar en forma paralela varias señales.

Las QD son nanocristales (Fig. 2,3) semiconductores fluorescentes de pocos nanómetros de diámetro, tanto su forma como tamaño dependen de su absorción y emisión. Su absorción tiene una gran probabilidad en energías altas lo que da como resultado un espectro de absorción de banda ancha, mejor que la mayoría de los fluoróforos, así como un mayor tiempo de vida lo cual le permite separar sus señales de células en las que se ha encontrado autofluorescencia de tiempo de vida más cortos. Cuanto más grande es el punto del quantum, su espectro fluorescente se desplaza al rojo intenso, mientras más pequeño es, se ubicará en el extremo azul. Puntos más grandes de QD tienen más niveles de energía ¹⁶.

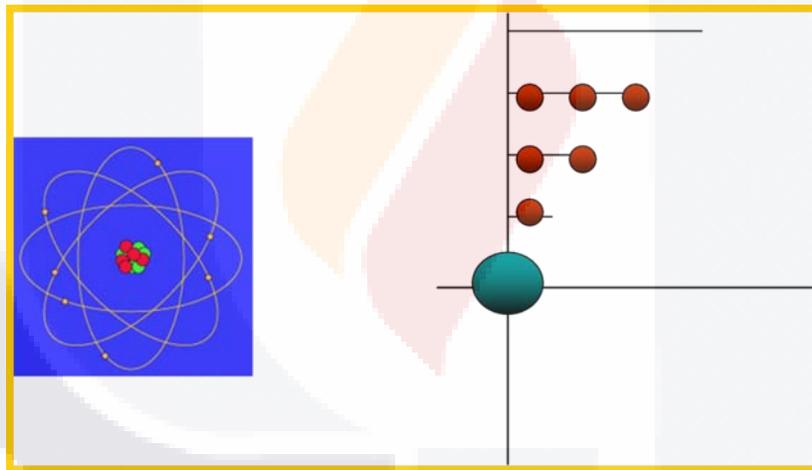


Fig. 1 Esta imagen representa el esquema básico del modelo atómico de Bhor (izquierda) y también están representados los niveles energéticos en los cuales se encuentran distribuidos los electrones alrededor del núcleo atómico (derecha).

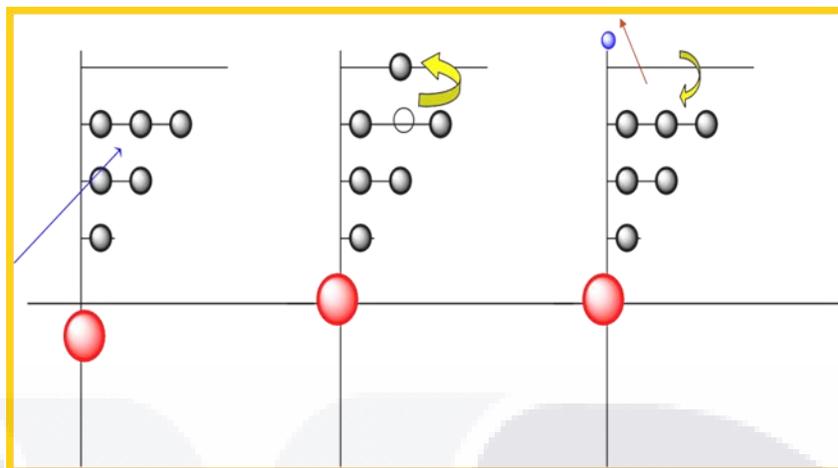


Fig. 2 Las propiedades fluorescentes de los QD son explicadas básicamente en este esquema, de izquierda a derecha, la primera imagen representa el momento en el cual un haz de luz (quantum) choca con un electrón provoca un salto de este electrón a otro nivel energético (imagen central), sin embargo, este cambio energético no es estable, por lo que el electrón debe volver a su nivel energético original, liberando energía luminosa, la cual se refleja en un efecto luminiscente.

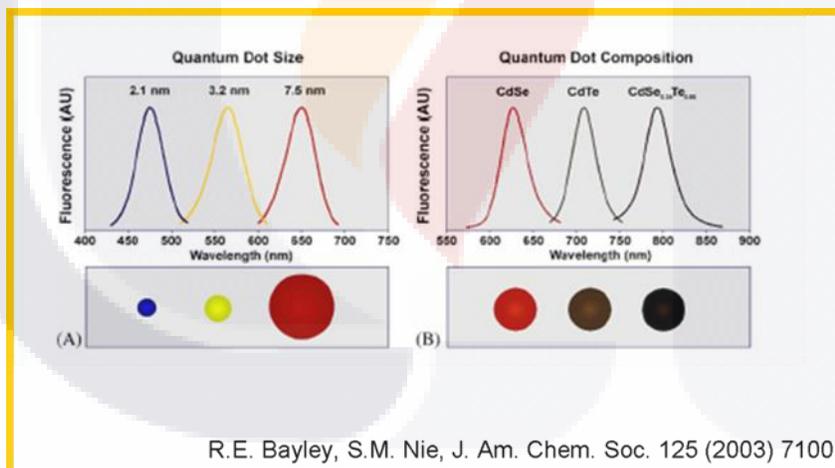


Fig. 3. Las QD semiconductoras de estas dimensiones tan minúsculas se caracterizan por que la longitud de onda de la luz fluorescente que emiten no sólo depende del material, sino también del tamaño de las partículas. Pero como todas ellas pueden ser excitadas con una única longitud de onda en la zona ultravioleta, esto permite detectar simultáneamente en una misma muestra diferentes anticuerpos o material genético sin problemas de solapamiento entre la luz de excitación y la luz de emisión. Esta capacidad de uso múltiple aceleraría y abarataría las pruebas diagnósticas.

Debido a estas propiedades actualmente las QD tienen un gran potencial de aplicación en biología celular, específicamente, en la observación de difusión de receptores individuales de glicina de neuronas, en la identificación de nódulos linfáticos por emisión cercana al infrarrojo durante cirugías en animales vivos, en el estudio de procesos intracelulares a nivel molecular simple, imagenología celular de alta resolución, observación a largo plazo de intercambio celular, identificación de tumores y diagnósticos, como marcadores inmunofluorescentes fijados en células y tejidos, en inmuno tinción de proteínas de membrana, microtúbulos, actina y antígenos nucleares, así como fluorescencia en hibridación in situ de cromosomas o DNA combinado.

Una QD se forma a partir de combinar un precursor metálico u organometálico como puede ser Zn, Cd o Hg, con el calcógeno correspondiente S, Se o Te, en un solvente adecuado, razón por la cual también se les llama semiconductores coloidales nanocristalinos, es decir, partículas sólidas dispersas en un líquido. En general como en el caso de los semiconductores comunes las QD se forman de la combinación de los elementos de la tabla periódica del grupo III con el grupo V, por ejemplo: InP, InAs; o de la combinación de los grupos IV y VI, como son PbSe, PbTe, PbS.

Hasta ahora se han desarrollado un gran número de métodos para producir QD, entre ellos podemos mencionar dos grandes grupos: los métodos descendentes como son las técnicas de bombardeo de fotones o electrones sobre sólidos semiconductores para producir materiales nanométricos; y las técnicas ascendentes, sistemas que van de complejidad nula a estructuras realmente complejas, también conocidos como sistemas emergentes o de autoensamblado. Las técnicas de autoensamblado han sido fundamentales para la producción de QD coloidales, en donde lo importante para la síntesis es que el solvente en el que se encuentran dispersos sea estable a altas temperaturas y que actúe como un tensoactivo que estabilice la superficie, de manera que prevenga la agregación de las partículas y controle la velocidad de crecimiento.

Detección de la penetración de las nanopartículas

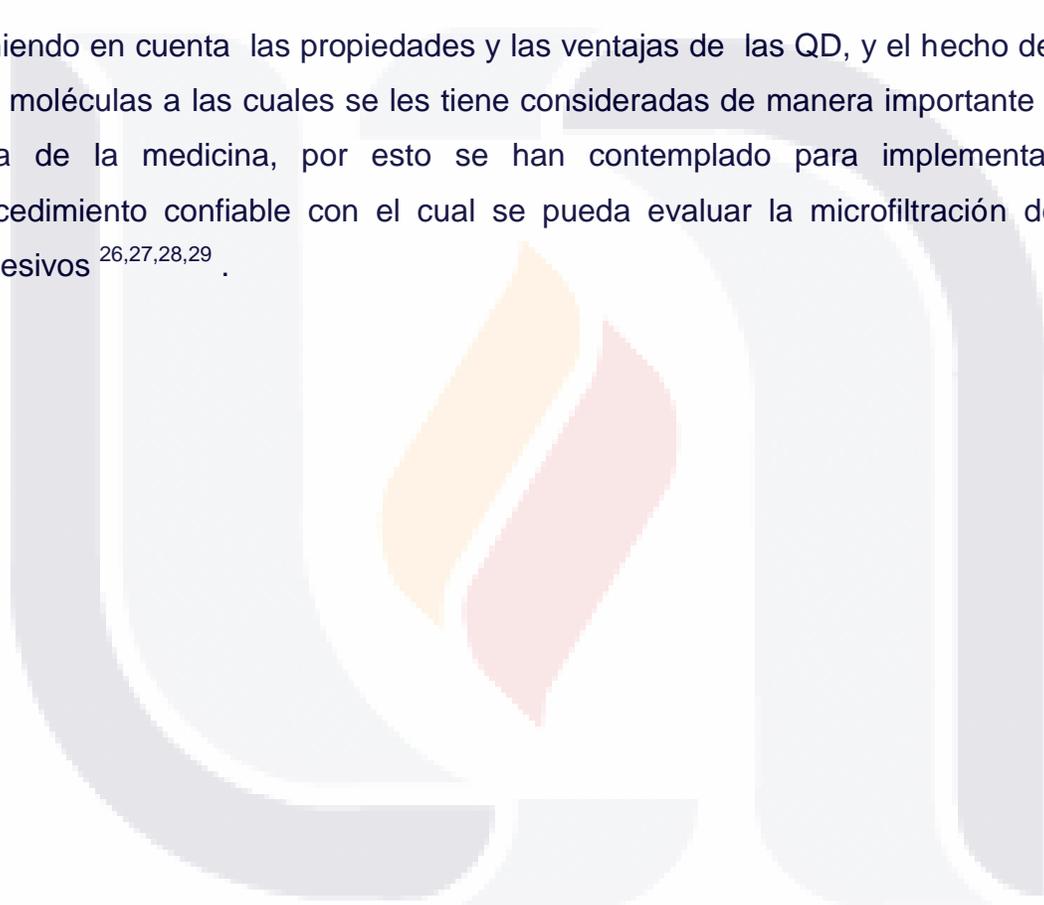
Los eventos moleculares que se llevan a cabo en sistemas biológicos pueden ser detectados usando principalmente tres tipos de detecciones: óptica, eléctrica y magnética. Para fines de este estudio, solo se explicará la detección óptica.

Detección óptica: las propiedades ópticas en los sistemas en los que intervienen las QD se relacionan con la interacción del material con radiaciones electromagnéticas. Cuando los fotones interactúan con la estructura electrónica o cristalina de un material se producen una gran diversidad de efectos ópticos que incluyen la absorción, transmisión, refracción, reflexión y/o luminiscencia. Esta última, relacionada con la conversión de radiación y otras formas de energía en luz visible. En todos estos procesos, los electrones pasan de niveles excitados a niveles de valencia produciendo fotones. Si la longitud de onda de estos fotones está dentro del espectro de luz visible, aparecerá la luminiscencia. En estos materiales luminiscentes se observan dos efectos: la fluorescencia y la fosforescencia. En la fluorescencia todos los electrones excitados vuelven a la banda de valencia y los fotones correspondientes son emitidos una fracción de segundo después de haberse eliminado el estímulo. En los dispositivos cuánticos confinados es posible controlar la energía con la cual esperamos que emita fluorescencia, por lo que es posible separar estas señales de las que emiten los sistemas biológicos o se pueden acoplar dependiendo del tipo de detección que se busque.

Esta clase de detección ha sido el mecanismo más usado para la localización de enlaces biológicos y para la producción de imágenes en sistemas vivos. En el futuro una de las metas es poder detectar una molécula in-vivo, sin importar la gran variedad química que se encuentra presente en un organismo vivo.

Para este propósito se están desarrollando combinaciones de sistemas basados en semiconductores confinados y nanopartículas metálicas con la manipulación de un campo energético local en sus propios ambientes. Esto serviría, por ejemplo, para producir dispositivos capaces detectar una sola molécula de organismos huéspedes causantes de enfermedades en hombres y animales, lo que reduciría sustancialmente el costo en el diagnóstico de enfermedades.

Teniendo en cuenta las propiedades y las ventajas de las QD, y el hecho de que son moléculas a las cuales se les tiene consideradas de manera importante en el área de la medicina, por esto se han contemplado para implementar un procedimiento confiable con el cual se pueda evaluar la microfiltración de los adhesivos^{26,27,28,29}.



CAPÍTULO 3

3.1 HIPÓTESIS

Los adhesivos de quinta generación tienen menor microfiltración que los de séptima generación al ser evaluadas por medio de nanopartículas semiconductoras.

3.2 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un método in vitro para la evaluación de la microfiltración de los adhesivos de quinta y séptima generación.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Basado en la utilización de nanopartículas semiconductoras metálicas como marcadores de filtración, valorar y comparar a través de la microscopía confocal las características y el grado de microfiltración de los adhesivos de quinta y séptima generación.

CAPÍTULO 4

4.1 METODOLOGÍA

Área:

Adhesión Dental

Tema:

Microfiltración

Lugar de realización:

Laboratorio del área Preclínica del Departamento de Estomatología del Centro de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Laboratorio de Ciencias Básicas e Ingeniería Tisular de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Laboratorio del área Preclínica de la Maestría de Endodoncia de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Tipo de Estudio:

Experimental in vitro

Universo:

Órganos dentarios recién extraídos (Premolares Superiores e Inferiores)

Tamaño de muestra:

5 grupos de 25 órganos dentarios.

Criterios de Inclusión:

- Premolares mandibulares y maxilares recién extraídos superiores e inferiores.
- Premolares sin caries en donde se pueda realizar una cavidad sin debilitar estructura dental.

Criterios de Exclusión:

- Premolares con Caries cervical o coronal
- Fracturas traumáticas de esmalte
- Fracturas coronales o zonas de atrición producidos con exposición de la dentina
- Desgastes y abrasiones cervicales
- Malformaciones congénitas de esmalte o dentina evidentes a la exploración.
- Premolares mandibulares y maxilares que tengan grandes cavidades con caries.
- Órganos dentarios con fluorosis.
- Premolares con caras oclusales muy pequeñas.
- Criterios de Eliminación:
- Premolares que presenten caries en esmalte y dentina.

4.2 VARIABLES INDEPENDIENTES

Adhesivo Autograbante (Séptima Generación)

Definición Conceptual: Solución monocomponente que usa monómeros ácidos que acondicionan, imprimen y se adhieren al tejido dental que no requieren lavarse.

Definición Operacional: Solución monocomponente colocada sobre la estructura dentaria de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Adhesivo no Autograbante (Quinta Generación)

Definición Conceptual: Solución monocomponente que usa monómeros ácidos que acondicionan, imprimen y se adhieren al tejido dental que requieren lavarse una vez realizado el gradado total.

Definición Operacional: Solución colocada monocomponente colocada sobre la estructura dentaria de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Escala de Medición: Categórica Nominal

4.3 VARIABLES DEPENDIENTES

Microfiltración

Definición Conceptual: Se define como el pasaje clínico no detectable de bacterias, fluidos, iones o moléculas entre la pared de una cavidad y el material restaurador aplicado sobre ella.

Definición operacional: Se medirá de forma cuantitativa a través del microscopio confocal señalando si se observó o no microfiltración.

Escala de Medición: Categórica Nominal

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables de respuesta se midieron en forma nominal en los 4 grupos de estudio.

Se utilizó la prueba de X^2 (Chi Cuadrada) de Independencia o asociación con un nivel de significancia (α) de 0.05.

JMP-IN Version 4.0.1 (Academic) Copyright 1989-2000 SAS Institute Inc. Cary, NC.

4.5 INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

- Microscopio Confocal Leica TCS SP5, DM, 100 x 80 mm
- JMP-IN Version 4.0.1 (Academic) Copyright 1989-2000 SAS Institute Inc. Cary, NC.

4.6 MATERIALES

- Hojas de recolección de datos (Serie de Termociclado)
- Adhesivos de Séptima Generación: ADHESE ONE (Ivoclar Vivadent, Alemania), ADPER EASY ONE (3M ESPE, E.E.U.U.)
- Adhesivos de Quinta Generación: EXCITE (Ivoclar Vivadent, Alemania), PRIME AND BOND NT (Densply, E.E.U.U.).
- Nanopartículas (Orange CdSe Quantum Dot Cores 590 nm).
- Aplicador para adhesivo, fine Microbrush (E.E.U.U.)
- Ácido Fosfórico (ETCH-37%, BISCO, Alemania)
- Resina fluida (TE- ECONOM FLOW 2G A2; Ivoclar Vivadent, E.E.U.U.)
- Lámpara Halógena (DENTSPLY QHL75 Curing Ligth, E.E.U.U.)
- Termómetro de mercurio
- Disco de Diamante (ISOMET, Alemania)
- Modelina en barra (Kerr, E.E.U.U.)
- Pieza de alta velocidad (W&H, Alemania)
- Microscopio Confocal Leica TCS SP5, DM, 100 x 80 mm, Magnitud 10X, Alemania)
- Sonda Periodontal de 15mm (HU-FRIEDY, Alemania)

- Fresa de Bola de Diamante No. 4 (SS White, E.E.U.U.)
- Termobaño. Cole-Parmer. Polystat temperatura controller, E.E.U.U.)
- Termobaño Felisa (E.E.U.U.)
- Cuadro de poliestireno de 14 x 12 x 1 cm
- Cera para modelar (HU-FRIEDY, Alemania)
- Pintura de Aceite
- Probetas
- Pinzas de curación (HU-FRIEDY, Alemania)
- Agua Destilada
- Solución Salina
- Recipientes de plástico
- Vasos de precipitado
- Software, Las Ez Microscópio Confocal
- Cronómetro
- Lentes de Protección
- Lentes de Protección luz halógena
- Radiómetro (3H, Australia)
- Caja de cultivo de 24 pozos (E.E.U.U.)
- Marcador permanente de punta fina
- Cubrebocas
- Guantes de látex
- Unidad Dental (ADEC, REF: 8000, SIN: H697485)

4.7 PROCEDIMIENTO

4.7.1 Preparación de las muestras

En este estudio se realizará a doble ciego utilizando un total de 125 órganos dentarios (premolares superiores e inferiores) los cuales se dividieron en 3 Grupos: Grupo1: 50 órganos dentarios para los adhesivos de quinta generación, los cuales se subdividieron a su vez en 25 de acuerdo a la marca comercial es decir 25 para el adhesivo EXCITE, Ivoclar Vivadent y 25 para el adhesivo PRIME AND BOND NT Densply , en el Grupo 2: También se estudiaron 50 órganos dentarios para los adhesivos de séptima generación que también fueron divididos de acuerdo a la marca comercial, 25 órganos dentarios para el adhesivo ADPER EASY ONE 3M ESPE, y 25 órganos dentarios para el adhesivo ADHESE ONE Ivoclar Vivadent. Y en el Grupo 3: Se tomaron 25 dientes como grupo control (control positivo y control negativo).

5. Generación	Nanopartículas	7. Generación	Nanopartículas
	Selenio-Cadmio		Selenio-Cadmio
Excite	25 muestras	Adper Easy One	25 muestras
Prime and Bond	25 muestras	Adhese	25 muestras

Tabla 1: Clasificación de los adhesivos de acuerdo a su generación y el número de muestras utilizadas en el estudio.

4.7.2 Preparación de los Adhesivos de Quinta Generación

Se realizaron cavidades en las caras oclusales clase I a cada una de las muestras con una fresa de bola de diamante No. 4 de bola (Diatech COA). Por medio de una sonda periodontal de 15mm (HU-FRIEDY), se verificó durante el proceso que las cavidades cumplieran los parámetros de 5 mm de ancho por 2 mm de profundidad.

Posteriormente se lavaron las muestras con agua destilada, se secaron con aire y se colocó el ácido grabador (ETCH-37%, BISCO), realizando un grabado total por 15 segundos. Se enjuagaron con agua destilada por 5 segundos para eliminar completamente los excedentes del ácido, después se secaron con aire, tratando de evitar el reseca la cavidad, y se colocó el adhesivo de quinta generación (EXCITE Ivoclar Vivadent; PRIME AND BOND Densply) de acuerdo a las indicaciones del fabricante, frotándolo durante 20 segundos hasta que la cavidad quedé brillante, se aplicó un poco de aire, se foto curó (DENSTPLY QHL75 Curing Ligth) durante 10 segundos y después se obturó con resina fluida hasta llenar la cavidad (TE- ECONOM FLOW 2G A2; Ivoclar Vivadent) y se fotocura por 20 segundos (DENSTPLY QHL75 Curing Ligth). La luz de la lámpara fue verificada por un radiómetro (marca).

4.7.3 Preparación de los adhesivos de séptima generación

Se realizaron cavidades en las caras oclusales clase I a cada uno de los premolares con una fresa de bola de diamante No. 4 (Diatech, COA). Después se enjuagaron con agua destilada, se secaron tratando de no resecar la cavidad, y se les colocó el adhesivo de séptima generación (ADHESE Ivoclar Vivadent; ADPER EASY ONE; 3M ESPE) de acuerdo a las indicaciones del fabricante, frotándolo durante 20 segundos en la cavidad hasta que esta quedé brillante, Se aplica un poco de aire; se fotocura (DENSTPLY QHL75 Curing Ligth) durante 10 segundos, y después se coloca la resina fluida (TE-ECONOM FLOW 2G A2; Ivoclar Vivadent) y se fotocura por 20 segundos. La luz de la lámpara fue controlada por medio de un radiómetro (marca).

Proceso de Termociclado: Después los dientes fueron sometidos a 250 termociclados, se fijaron estos en un cuadro de poliestireno de 14 x 12 x 1 cm después fueron sumergidos en 3 baños diferentes, uno presentaba la temperatura de la boca a 37°C, otro a la temperatura de 52.9°C y otro a 4°C y se colocaron 30 segundos en cada baño los órganos dentarios; las temperaturas fueron controladas por medio de termómetros.

Preparación de los órganos dentarios para la exposición de estos a los qdots: Una vez terminados los termociclados, los órganos dentarios incluyendo corona y raíz por su parte externa fueron pintados con esmalte para uñas (Nombre científico y marca), así como también con cera para modelar (HU-FRIEDY), esto sirviendo como aislamiento y no permitir que penetren las nanopartículas en esas áreas.

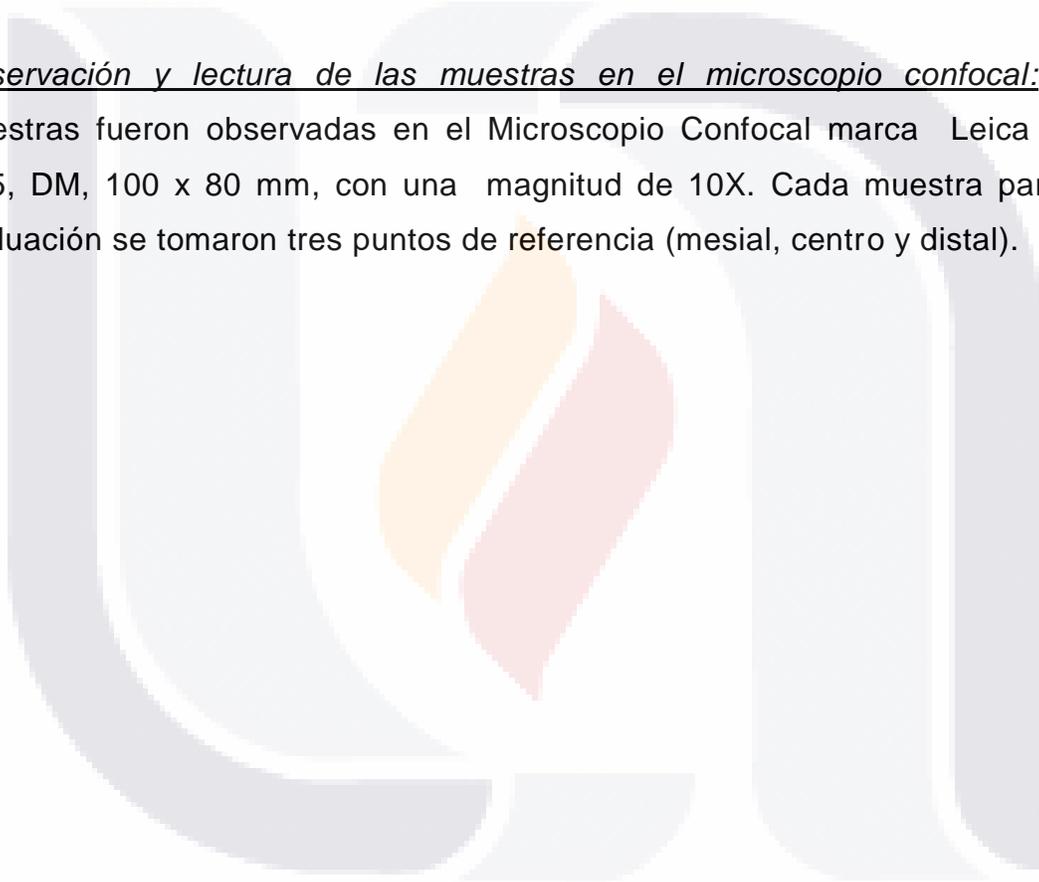
Exposición de las muestras a las nanopartículas (qdots): En una caja de cultivo de 24 pozos se colocó 500 microlitros de nanopartículas (Orange CdSe Quantum Dot Cores 590 nm) con una probeta, después se colocaron los

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

dientes con la corona sumergida en las Nanopartículas, durante 4 horas. Y se envolvió la caja con papel aluminio para que no penetrará ningún rayo de luz.

Seccionamiento de las muestras: Después los órganos dentarios se seccionaron con un disco de diamante (ISOMET falta más sobre la marca), el cual dividió a los órganos dentarios en dos partes obteniendo dos muestras. Las cuales fueron después observadas por el microscopio confocal.

Observación y lectura de las muestras en el microscopio confocal: Las muestras fueron observadas en el Microscopio Confocal marca Leica TCS SP5, DM, 100 x 80 mm, con una magnitud de 10X. Cada muestra para su evaluación se tomaron tres puntos de referencia (mesial, centro y distal).



CAPÍTULO 5

RESULTADOS

5.1 Resultados por Grupo

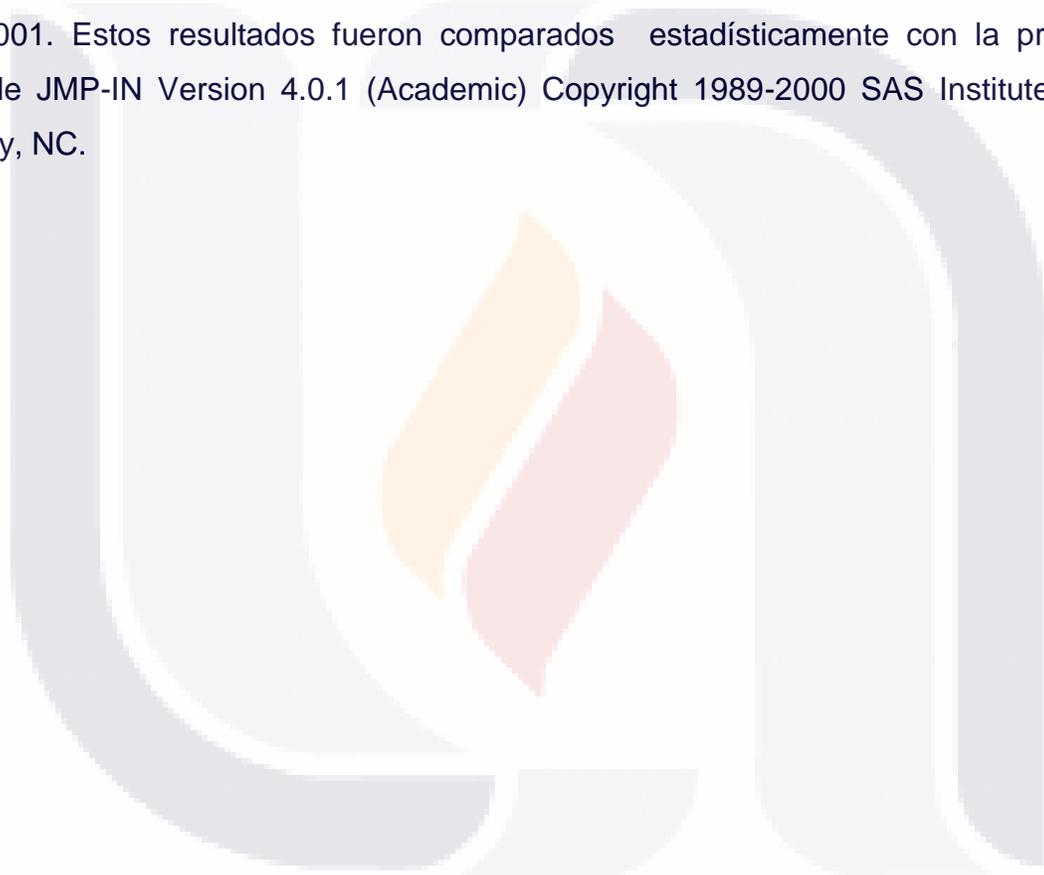
En la prueba de adaptación marginal se tomaron en cuenta 3 puntos de cada muestra de los órganos dentarios, para un total de 150 observaciones en cada uno de los grupos de estudio. En el grupo A que corresponde al adhesivo de séptima generación el ADHESE ONE (Ivoclar) presentó un 59.33% de ausencia de microfiltración y un 40.67% de microfiltración. En el grupo B (APTER EASY ONE) de la casa 3M obtuvo un 78% de ausencia de microfiltración y un 22% de microfiltración. En el grupo C que correspondió para el adhesivo EXCITE (Ivoclar) obtuvo un 6% de microfiltración y un 94% de ausencia de microfiltración. En cambio en el grupo D para el adhesivo PRIME AND BOND (Denstply) se presentó un 6% de microfiltración y un 94% de ausencia de microfiltración. Existiendo una diferencia estadística significativa entre ambos grupos ($p < .0001$).

5.2 Resultados por Generación

Al realizar comparaciones entre los grupos de cada generación se obtuvo para los de séptima generación un 68.67% de ausencia de microfiltración y un 31.33% de microfiltración. En comparación con los de quinta generación se presentó 94% de ausencia de microfiltración y un 6% de microfiltración. Determinándose que existe diferencia estadística significativa entre ambos grupos ($p < .0001$).

5.3 Resultados por Comparación de Grupos

Al realizar la comparación entre el adhesivo Adhese One y el Excite existió un 76.67% de ausencia de microfiltración y 23.33% de microfiltración determinándose una diferencia significativa de $p < .0001$. En cambio entre el adhesivo Apter Easy One y el Prime and Bond se obtuvo un 86% de ausencia de microfiltración y un 14% de microfiltración y también hubo una diferencia estadística significativa de $p < .001$. Estos resultados fueron comparados estadísticamente con la prueba χ^2 de JMP-IN Version 4.0.1 (Academic) Copyright 1989-2000 SAS Institute Inc. Cary, NC.



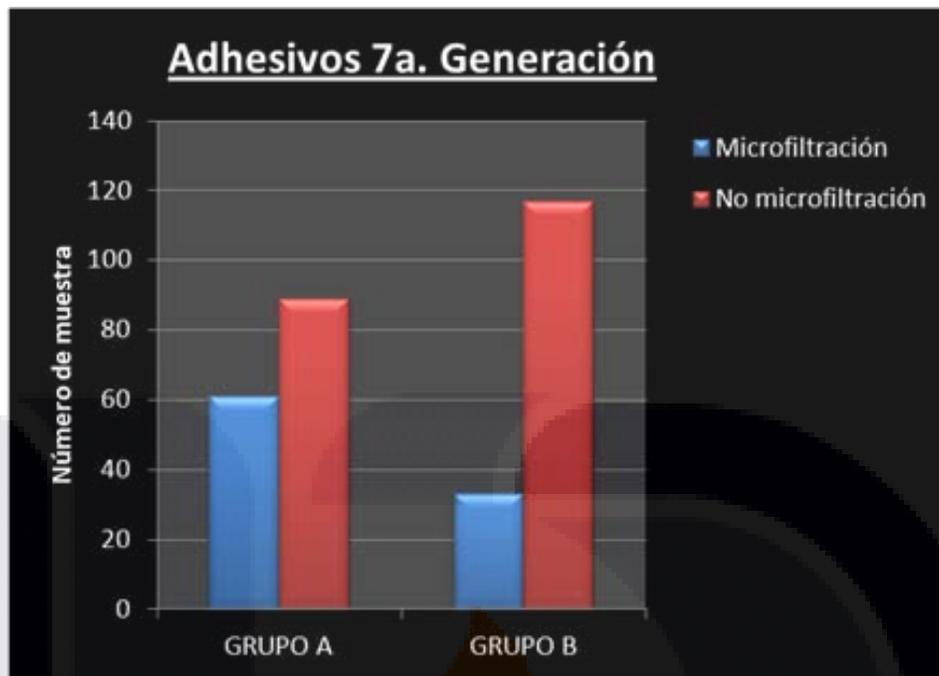


Tabla 2. Número de muestras de los Adhesivos de Séptima Generación con Microfiltración y con ausencia de Microfiltración (Grupo : ADHESE ONE, (Ivoclar), Grupo B: APTER EASY ONE (3M)).

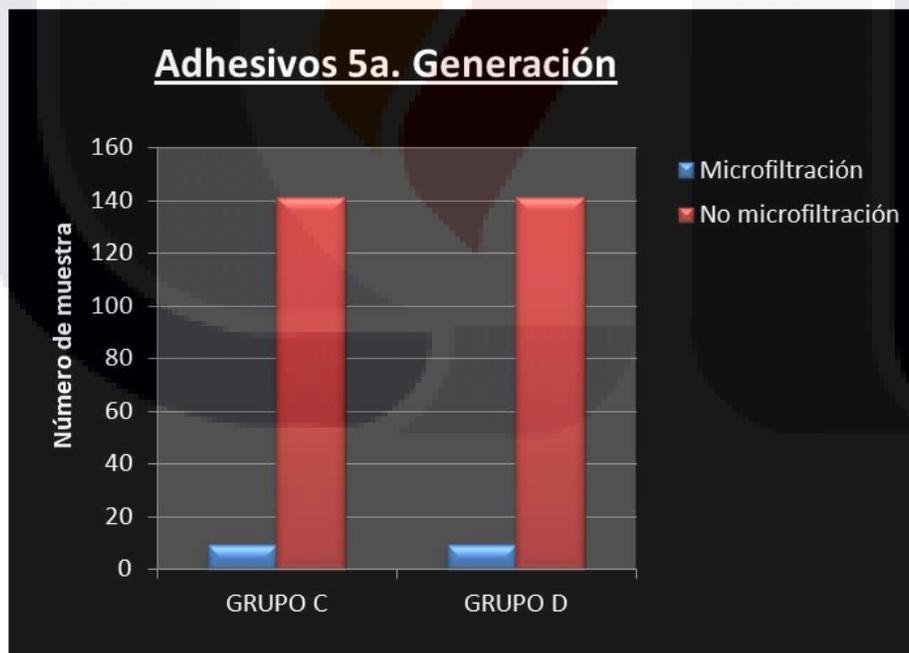


Tabla 3. Número de muestras de los Adhesivos de Quinta Generación con Microfiltración y con ausencia de Microfiltración (Grupo C: EXCITE (Ivoclar Vivadent); Grupo D: PRIME AND BOND (Densply)).

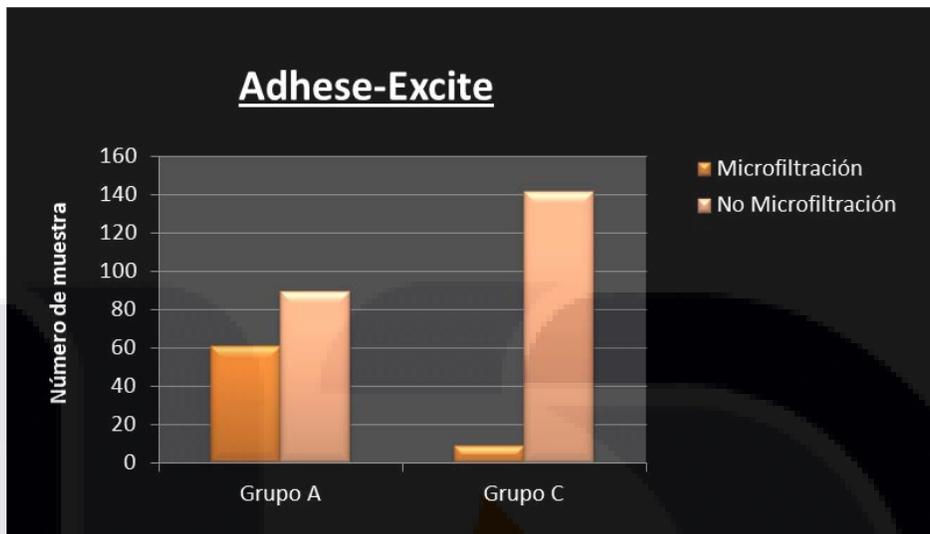


Tabla 4. Comparación de Adhesivos ADHESE ONE (Séptima Generación) y EXCITE (Quinta Generación) de acuerdo al número de muestras que presentaron la microfiltración.

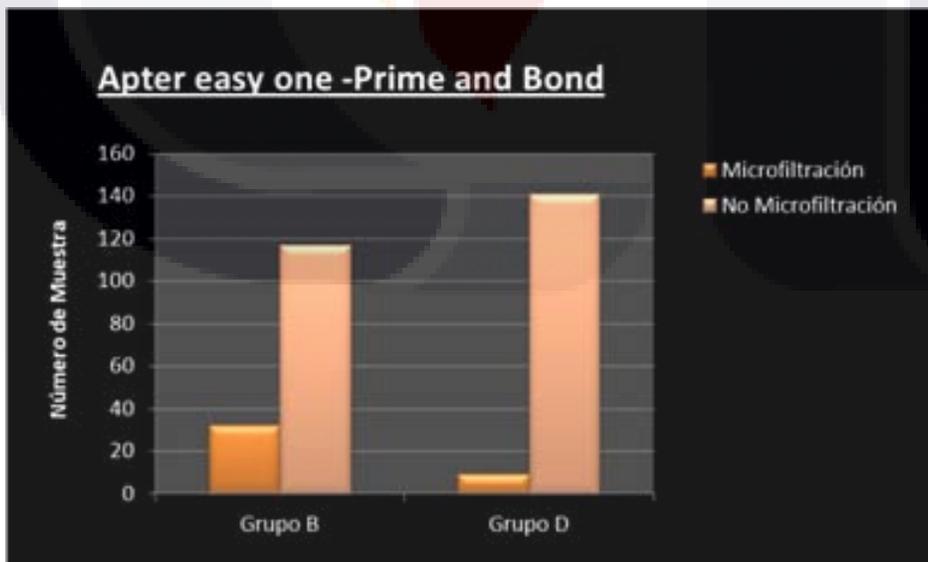


Tabla 5. Comparación de Adhesivos APTER EASY ONE (Séptima Generación) y PRIME AND BOND (Quinta Generación) de acuerdo al número de muestras que presentaron la microfiltración.

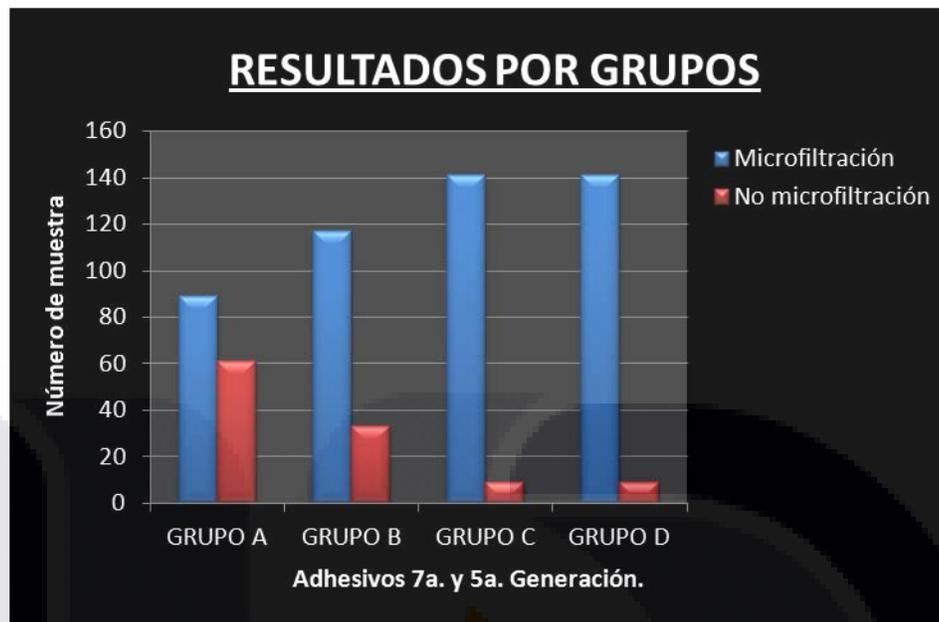


Tabla 6. Comparación de todos los grupos de adhesivos de acuerdo a la Microfiltración.

DISCUSIÓN

En la odontología adhesiva siempre ha existido la inquietud de encontrar o desarrollar un material restaurador que se pueda considerar como material ideal, pero hoy en día existen nuevos materiales que se introducen constantemente en el mercado dental, incluso algunos sin suficientes estudios de verificación clínica, que permitan valorar no solo la fuerza de adhesión a esmalte y/o dentina, sino también el efecto sobre el substrato dental y su relación con la microfiltración ¹². El lograr la adhesión a las estructuras del diente ofrecería ventajas sobre los materiales o sobre las técnicas que no ofrecen una adhesión química. Su obtención favorecerá el tener que remover menor cantidad de tejido dentario, la creación de preparación de cavidades más conservadoras y el poder modificar los conceptos básicos de las formas de retención y resistencia . Uno de los factores importantes en la adhesión es la formación de una capa híbrida la cual nos ayudará a que exista una unión entre el material restaurador y la estructura dentaria y tener una buena adaptación, ya que al presentar una deficiente adaptación se favorece a la microfiltración, lo que implica el paso de bacterias, fluidos, moléculas y iones entre la interfase del órgano dentario y el material, esto propicia un avance de la lesión cariosa debajo de una restauración ¹⁵.

En estudios anteriores es importante destacar que la mayoría de las investigaciones que se desarrollan en el ámbito mundial tienen como finalidad sintetizar nuevos sistemas adhesivos con menor número de componentes y pasos clínicos como sucede en los adhesivos de autograbado, aunque esta simplificación de las fases clínicas no signifique necesariamente mejoras en la fuerza de adhesión o control de microfiltración así como tampoco una importante disminución del tiempo total de trabajo. Durante este trabajo se manejaron dos generaciones de adhesivos (quinta y séptima generación), en donde se presentó mayor microfiltración de los QD en los adhesivos de séptima generación, después del termociclado. Algunos autores reportan que la resistencia de la adhesión de

los adhesivos autograbantes es inferior al obtenido con los otros sistemas de adhesión que utilizan ácido ortofosfórico, para condicionar la superficie. Otros estudios mencionan que la fuerza de unión entre el esmalte y la resina con adhesivos autograbantes ha reportado un valor tan alto como de 20 a 30 Mpa, similar al rango reportado utilizando el ácido grabador en el esmalte.

El ácido grabador se ha usado como coadyuvante en la retención micromecánica y el cual proporciona una adecuada resistencia a las estructuras del diente ⁴. Aunque Miyazaki et al reportó de que existe mayor resistencia al esmalte en los dientes frotando constantemente el adhesivo en la cavidad. Por lo que determina que el componente mineral y las propiedades de los adhesivos podrían jugar un papel importante en la determinación de la resistencia del adhesivo, así como también menciona que el grado de profundidad en el esmalte del adhesivo puede depender del tipo y concentración de ácido grabador que se utilice, la duración del grabado y la composición química de la superficie (diente), pH, morfología del esmalte, concentración de calcio-fosfato, sitio del esmalte, viscosidad y tiempo de enjuagado ^{7,9,19}.

El tiempo del grabado del esmalte se ha reducido los 60 segundos de aplicación para ácido fosfórico de 30-40% a un tiempo breve de 15 segundos. Diversos estudios in vitro y clínicos han reportado un equivalente para lograr una adhesión efectiva entre unos tiempos de 15 a 60 segundos. Existen otros reportes en donde la aplicación óptima de tiempo es de 30 segundos para un ácido grabador al 37% ²⁶. Es importante que se lleven a cabo estudios posteriormente acerca del comportamiento de los diferentes componentes de los adhesivos, como también del tiempo y concentración del ácido grabador durante la técnica de la aplicación de estos y así como influyen en el éxito de los adhesivos.

Otro fundamental problema con la adhesión de las resinas dentales es atribuible al volumen de encogimiento surgido por el estrés interno desarrollado durante la polimerización. Masuhara et al. fue el primero en sugerir que un iniciador de polimerización inicia el encogimiento de la polimerización por lo que es el principal

problema de adhesión de las resinas con los tejidos duros del diente ^{30,31}. Por lo que es importante auxiliarnos de un radiómetro para verificar la intensidad de la luz proyectada por la lámpara de fotocurado durante la polimerización.

Es importante también evaluar la resistencia que tienen los adhesivos a las diferentes temperaturas que se presentan en la cavidad oral, en trabajos previos se ha reportado órganos dentarios con selladores de fosetas y fisuras que fueron tratados por medio del procedimiento de termociclado en el cual se utilizan distintos baños con diferentes temperaturas simulando las presentes en la cavidad bucal, en estos estudios emplearon los órganos dentarios fueron tratados con mil ciclos, empleando dos temperaturas (5 a 45°C +- 1°C, en el primero y 5 a 55°C +- 1 en el segundo) ^{14,32}. En nuestro caso se realizaron 250 ciclos empleando tres temperaturas (5°, 37 y 55°C +- 1°C), los datos obtenidos concuerdan con los reportados por Pardi et al. en 2006 ⁷, para órganos dentarios procesados con este mismo tratamiento, utilizando materiales de restauración, podemos deducir que para este tipo de experimentos la desadaptación está directamente relacionada con las temperaturas ^{28, 29}, ya que a mayor cantidad de ciclos no se incrementa la desadaptación, no así cuando se emplea una temperatura intermedia de 37°C ^{3,13}. Se esperaba que, proporcionar una temperatura intermedia amortiguara el cambio brusco de temperatura ¹³ y por lo tanto el tratamiento sería menos agresivo y más cercano a las condiciones normales en la boca.

El termociclado consiste en someter las muestras del material, unidas o no a un diente, a cambios más o menos bruscos de temperatura sumergiéndolas en baños de agua fría y caliente de manera alterna y durante un determinado tiempo. El estrés térmico al que sometemos los dientes al comer, beber o incluso hablar (si el ambiente es extremadamente frío), puede resultar nocivo en las restauraciones dentales, induciendo la propagación de cracks (fisuras internas), en las interfaces adhesivas o dentro del mismo material (en su cohesión) ¹³; o bien modificando las dimensiones de los huecos ya existentes y creando en ellos el fenómeno de la precolación, que consiste en la succión de los fluidos orales al enfriarse y contraerse el material y la posterior expulsión al calentarse y dilatarse, en un flujo-reflujo constante ^{13,15,25}. Por otro lado los termociclado por lo general se realizan

en agua destilada lo cual produce hidrólisis de los adhesivos y cementos (desdoblamiento de la molécula orgánica) por un exceso de agua (Coral 2002) ¹³. Ante la información presentada y los resultados ya mencionados, podemos señalar que la microfiltración puede ser influenciado por el proceso de termociclado. Ya que aunque el termociclado pretende ser una simulación de los cambios térmicos que ocurren diariamente en la boca, y que se cree ocasionan modificaciones en los materiales, no existe una estandarización del método, pues la mayoría de los trabajos que utilizan este proceso, no coinciden en los tiempos, temperaturas y número de ciclos, lo cual hace complicado establecer y comparar rangos de resultados. Por lo que es recomendable que para futuras investigaciones hacer lo posible por emplear saliva artificial como medio de termociclado en lugar de agua destilada que como ya mencionamos se incorpora con mayor facilidad al material restaurador.

Los órganos dentarios seleccionados para este estudio fueron premolares superiores e inferiores ya que en la literatura menciona que en estos es menor la diferencia entre su anatomía.

Para la evaluación de la calidad del sellado de los adhesivos, se han ideado diseños experimentales para medir de forma cualitativa y cuantitativa a través de la penetración a los túbulos dentinarios de colorantes, de isótopos radioactivos, de bacterias, entre otros. Sin embargo, aún muchos de éstos presentan variaciones o resultados contradictorios ^{6,7}. El método elegido en este estudio para evaluar la microfiltración fue la utilización de NP que son partículas en un arreglo o en un conjunto de átomos o moléculas en escala nanométrica. Ya que las bacterias con un tamaño aproximado de 0.5- 1.0 micras, la nanopartículas su tamaño es mucho más pequeño 100 nanómetros por lo que es un método factible para medir la microfiltración. Otra ventaja de los QD como lo mencionan en otros estudios es que tiene propiedades fluorescentes por lo que su contraste tanto en los tejidos duros del diente y así como de los materiales restaurativos es notorio. Por lo que podemos determinar que el uso de los QD nos sirve para tener mediciones más objetivas y recolectar datos más exactos en comparación a otros estudios en los cuales utilizan otros métodos ¹¹.

En este estudio se empleó Tetric Flow, una resina Bis-GMA (bisfenoglicindimetacrilato), TEGDMA (trietilenglicoldimetacrilato) y UDMA (dimetacrilato de uretano), ya que se reconoce como uno de los materiales más efectivos, y en el cual no se tiene que ejercer cierta fuerza en la cavidad para la colocación de esta, ya que uno de los factores importantes a considerar al momento de colocar un material resinoso no fluido es que la adaptación depende de la aplicación correcta de este tipo de material. Aunado a lo anterior, esta resina puede ser usada con la técnica invasiva o no invasiva, en ambos casos se obtiene una buena adaptación. Tomando en cuenta todos estos factores se hizo todo lo posible para producir un tamaño idéntico de cavidad y una aplicación del adhesivo como se hace en la clínica diaria, siguiendo las indicaciones del fabricante y de manera cuidadosa.

De acuerdo a la anatomía de los premolares utilizados en este estudio, la microfiltración fue evaluada en tres puntos por cada hemisección dentinaria, estos puntos corresponden: 1) vertiente vestibular, 2) porción más profunda del surco central y 3) vertiente lingual.

Al analizar y comparar la microfiltración en la cavidad usando los adhesivos de quinta generación (Excite y Prime and Bond) y los adhesivos autograbantes de séptima generación (Adhese ONE y Apter Easy One) se observó que los adhesivos de quinta generación tuvo un mejor rendimiento al controlar la microfiltración.

CONCLUSIONES

Los adhesivos autograbantes utilizan monómeros ácidos que simultáneamente acondicionan e imprimen la dentina. Sin la necesidad de lavar, el tiempo de aplicación es más corto y la técnica es menos sensible, pero no es muy controlable la microfiltración como se observó en este estudio.

En los adhesivos de séptima generación, el adhesivo ADHESE ONE de Ivoclar presentó mayor microfiltración en la parte distal y mesial y menor microfiltración en el centro. En cambio en el APTER EASY ONE de 3M presentó mayor microfiltración en el centro y en distal y menor en la parte mesial.

En cambio en los adhesivos de quinta generación (EXCITE y PRIME AND BOND) no se observó microfiltración tanto en la parte mesial, centro y distal. Es importante mencionar que en estos adhesivos se invirtió mayor tiempo de trabajo, debido al grabado total que se llevó a cabo, pero se observó que presentan menor microfiltración.

Por lo que podemos concluir que los adhesivos de quinta generación tienen menor microfiltración, que los adhesivos de séptima generación, así como también se determinó que las nanopartículas sirve como método in vitro para la evaluación de la microfiltración en los materiales dentales.

ANEXOS

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
101	102	103	104	105	106	107	108	109	110
111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130
131	132	133	134	135	136	137	138	139	140
141	142	143	144	145	146	147	148	149	150
151	152	153	154	155	156	157	158	159	160
161	162	163	164	165	166	167	168	169	170
171	172	173	174	175	176	177	178	179	180
181	182	183	184	185	186	187	188	189	190
201	202	203	204	205	206	207	208	209	210
211	212	213	214	215	216	217	218	219	220
221	222	223	224	225	226	227	228	229	230
231	232	233	234	235	236	237	238	239	240
241	242	243	244	245	246	247	248	249	250

Tabla 7: Serie de Termociclados

FOTOS



Fig. 4 Selección de órganos dentarios.



Fig. 5 Realización de cavidad en el órgano dentario.

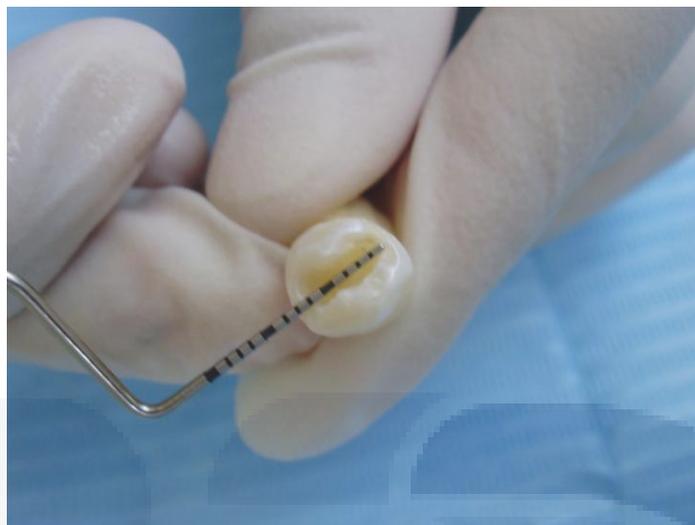


Fig. 6 Parámetros de la cavidad

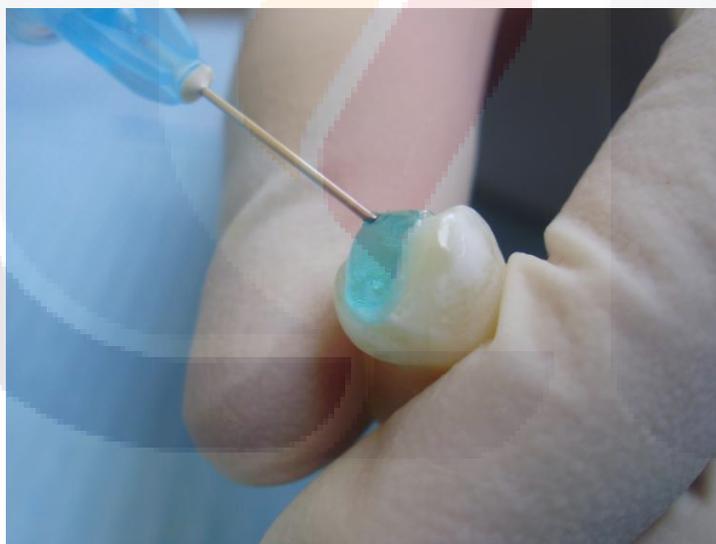


Fig. 7 Colocación de ácido grabador (15 segundos).

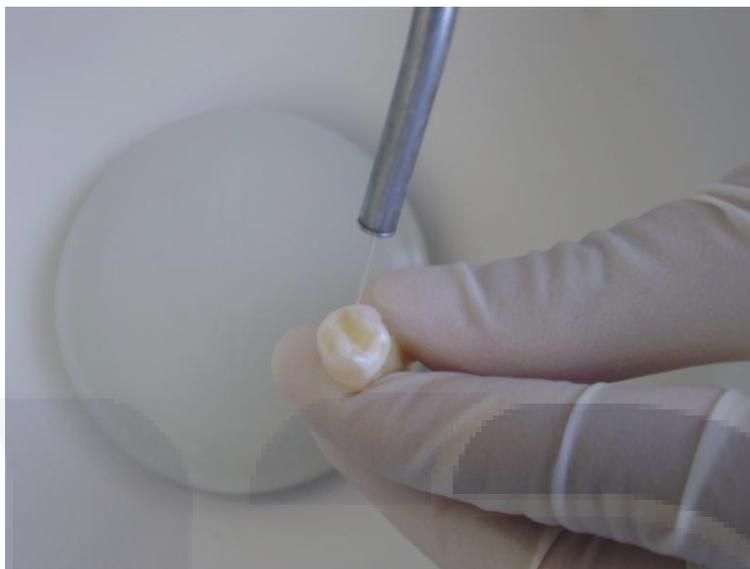


Fig. 8 Enjuagado y Secado del órgano dentario .

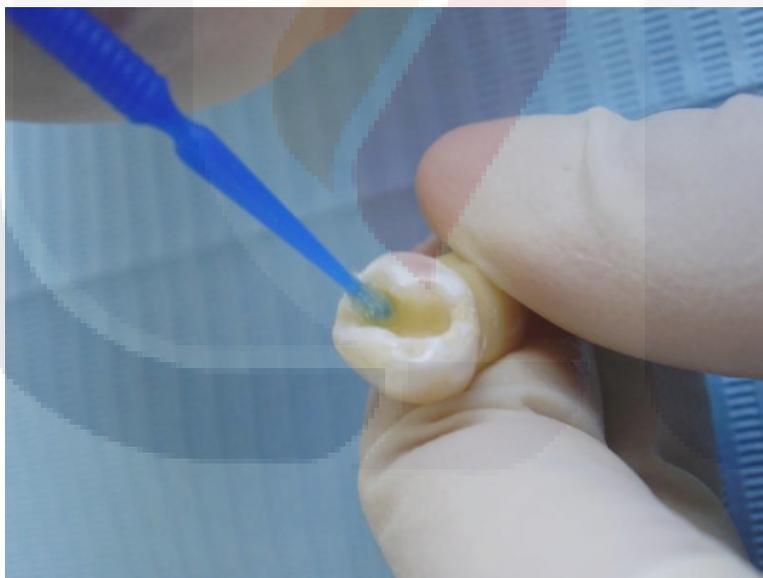


Fig. 9 Aplicación del Adhesivo

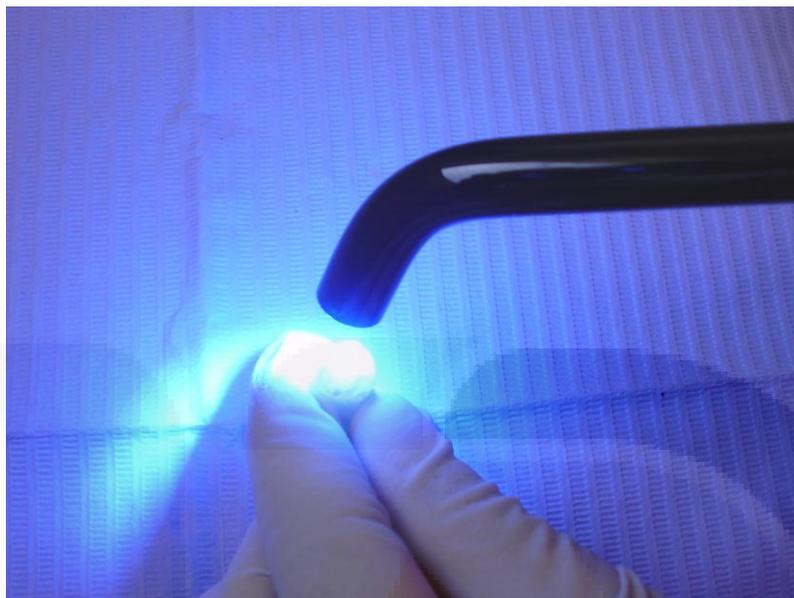


Fig. 10 Polimerización del adhesivo (20 segundos)

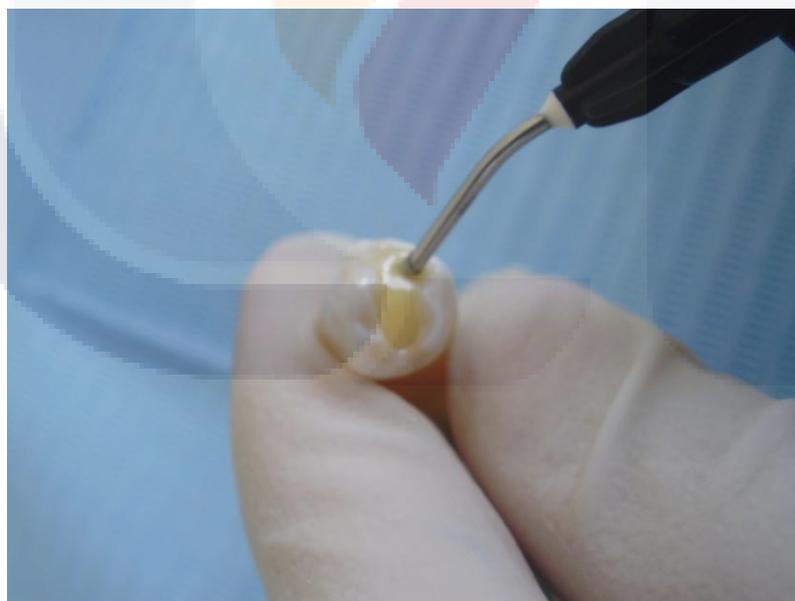


Fig. 11 Colocación y Polimerización de Resina.



Fig. 12 Proceso de Termociclado

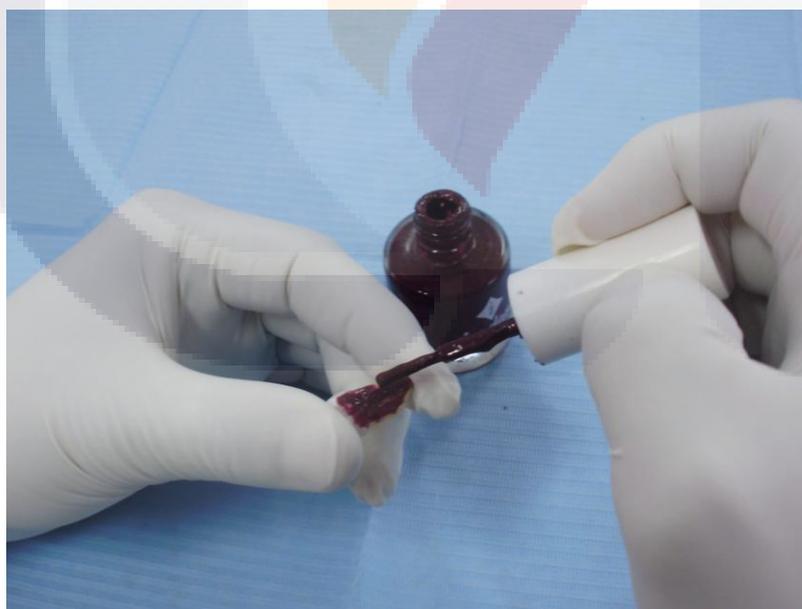


Fig. 13 Aplicación de Pintura de aceite y Cera para modelar en cada uno de los órganos dentarios.



Fig. 14 Colocación de los Qdots a los órganos dentarios por 4 horas.



Fig. 15 Observación de las muestras en el Microscopio Confocal.

**Imágenes de Presencia y Ausencia de Microfiltración
Adhesivos de 7^a Generación**

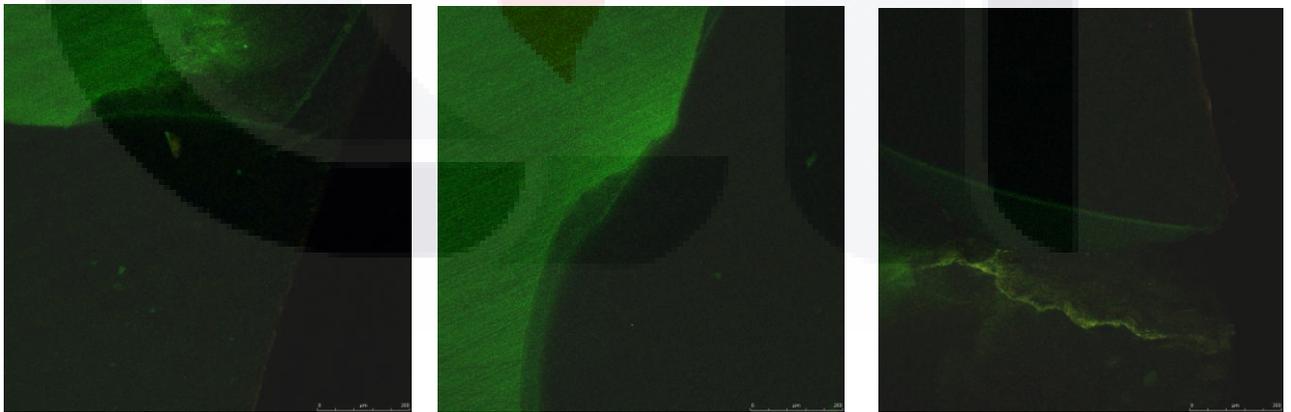


(A)

(B)

(C)

Fig.16 Presencia de Microfiltración en las partes evaluadas Mesial (A), Centro (B) y en Distal (C), en los órganos dentarios con el adhesivo Adhese One.



(D)

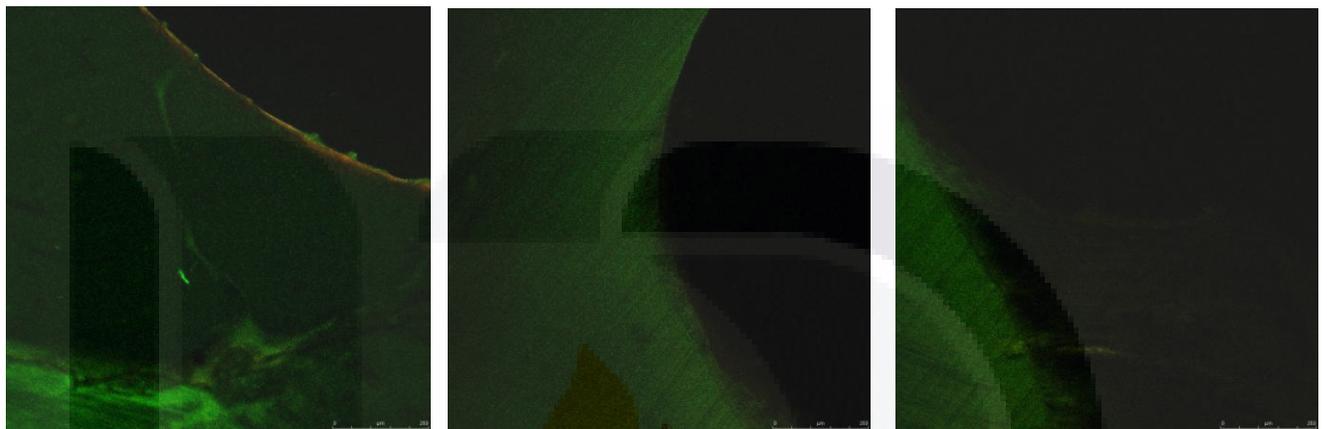
(E)

(F)

Fig. 17 Ausencia de Microfiltración en las tres partes de evaluación Mesial (D), Centro (E) y en Distal (F), en los órganos dentarios con el adhesivo Apter Easy One.

Imágenes de Presencia y Ausencia de Microfiltración

Adhesivos de 5ª Generación

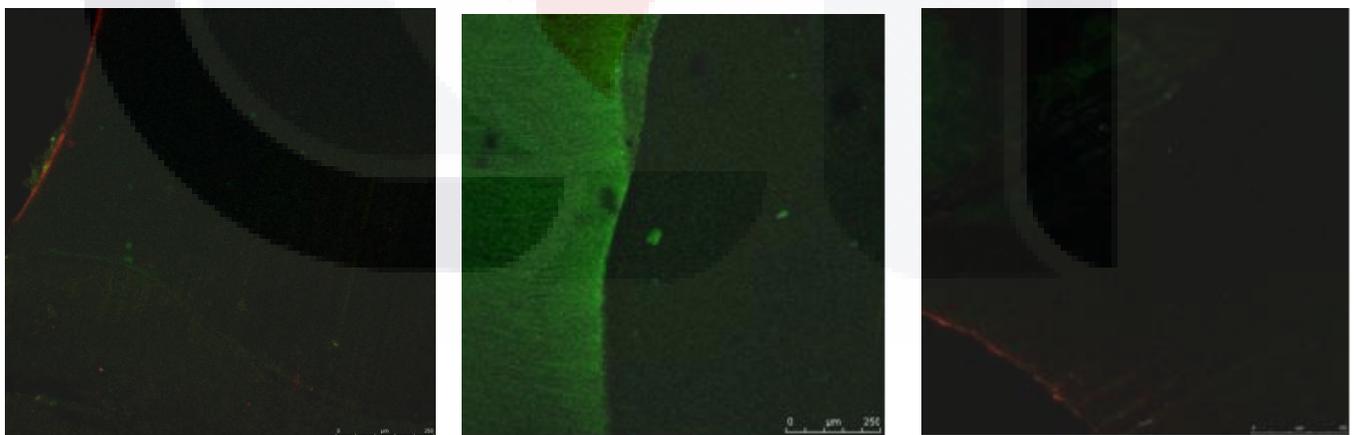


(A)

(B)

(C)

Fig. 18 Ausencia de Microfiltración en todas las partes evaluadas Mesial (A), Centro (B) y en Distal (C) en los órganos dentarios con el adhesivo Excite.



(D)

(E)

(F)

Fig. 19 Ausencia de Microfiltración en todos los lados evaluados Mesial (D), Centro (E) Y Distal (F) en los órganos dentarios con el adhesivo Prime and Bond.

GLOSARIO

Adhesivo dental: Material que colocado en capa fina sirve para adherir el material restaurador al diente, tanto a esmalte como a dentina.

Sistema Adhesivo: es el conjunto de materiales que nos permiten realizar todos los pasos de la adhesión, es decir, nos permiten preparar la superficie dental para mejorar el sustrato para la adhesión, también nos permiten la adhesión química y micromecánica al diente y por último se unen adecuadamente al material restaurador.

Contracción: Los materiales de resina tienen la propiedad de contraerse durante la polimerización, resultando fisuras por donde se filtra humedad y bacterias hasta la dentina, causando patología pulpar. Se han desarrollado nuevos materiales de adhesión y restauración, lámparas de fotopolimerización para reducir la contracción, a estos aspectos hay que sumarle los nuevos sistemas de resellado que en conjunto con una buena manipulación de cada paso en el procedimiento de la restauración puede minimizarse los resultados indeseables de la contracción.

Agente grabador: Los más frecuentemente usados son ácidos fuertes (Ortofosfórico al 37%) con la técnica de grabado total de Fusayama. También se siguen usando en la composición de los imprimadores ácidos débiles (cítrico maleico etc ...) y por último nos encontramos con las nuevas resinas acidicas (Phenil-P, MDP) que actúan como grabadores en los modernos adhesivos autograbantes.

Resinas hidrófilas: Estas son las encargadas de conseguir la unión a dentina impregnando la capa híbrida y formando "tags" aprovechando precisamente la humedad de la dentina. Son resinas como PENTA, HEMA, BPDM, TEGDMA, GPDM o 4-META.

Resinas hidrófobas: Son las primeras que formaron parte de los materiales adhesivos y aunque son poco compatibles con el agua su función en los sistemas adhesivos es doble, por un lado conseguir una buena unión a la resina compuesta que también es hidrófobo y por otro conseguir que la capa de adhesivo tenga un grosor suficiente para que nuestra interfase dentina resina soporte el estrés a que se va ver sometida ya que suelen ser más densos que las resinas hidrófilas.

Activadores: Son los encargados de desencadenar la reacción en cascada de la polimerización. Básicamente nos encontramos con dos, los fotoactivadores que son las camforoquinonas o el PPD y los quimioactivadores como el complejo Aminaperoxido. En algunas ocasiones se encuentran asociados ambos tipos de activadores y estamos entonces ante un adhesivo de fraguado dual.

Relleno inorgánico: Este componente no aparece en todos los adhesivos pero en los que lo hace pretende reforzar a través del nanorelleno la resina y conseguir así un adhesivo con propiedades mecánicas mejoradas. Con este tipo de adhesivos es más fácil conseguir un adecuado grosor de capa pues son menos fluidos.

Nanopartículas (Qdots): Son nanocristales (Fig. 2,3) semiconductores fluorescentes de pocos nanómetros de diámetro, tanto su forma como tamaño dependen de su absorción y emisión. Su absorción tiene una gran probabilidad en energías altas lo que da como resultado un espectro de absorción de banda ancha, mejor que la mayoría de los fluoroforos, así como un mayor tiempo de vida lo cual le permite separar sus señales de células en las que se ha encontrado autofluorescencia de tiempo de vida más cortos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carlos Carrillo S, MSD; Dentina y adhesivos dentinarios: Conceptos actuales. Revista ADM; Marzo 2006; Vol. LXIII, No. 2; pp45-51.
2. Sevi Burcak Cehreli, DDS, Neslihan Eminkahyagil, DDS; Effect of Active Pretreatment of Self-etching Primers on the Ultramorphology of Intact Primary and Permanent Tooth Enamel; Journal of Dentistry for Children 73:2; 2006; pp86-90.
3. Histología Oral. Segunda edición. Editoria médica panamericana 1986.
4. Harris N., Garcia-Goodoy F. 2005. Odontología Preventiva Primaria. Editorial Manual Moderno. 2ª Edición. pp 33-52.
5. Pardi V., Coelho M. A., Pereira A. C., Bovi, G. M. and de Castro, M. Marcelo. 2006. In vitro evaluation of microleakage of different materials used as pit –and-fissure sealants. Braz Dent J 17 (1); 49-52.
6. Boj J. R., Catalá, M., García Ballesta C. and Mendoza A. 2004. Odontopediatría. MASSON. 1ª Edición. pp 107-117; 138-139.
7. Escobar Muñoz Fernando. 2004. Odontología Pediátrica. AMOLCA. 2ª Editorial. pp.139-146.
8. Leandro P. Alves, Viviane Pilla, Dírian O.A. Murgo and Egberto Munin. Core-shell quantum dots tailor the fluorescence of dental resin composites. Journal of Dentistry. Vol. 38; 2010; pp 149-152.
9. Tissiana Bortolotto, Marco Ferrari and Alexander Susin; Morphology of the smear layer after the application of simplified self-etch adhesives on enamel and dentin surfaces created with different preparation methods; Clin Oral Invest; Vol.113; 2009; pp. 409-417.
10. Kunio IKEMURA and Takeshi ENDO; A review of our development of dental adhesives- Effects of radical polymerization initiators and adhesive monomers on adhesion. Dent Mat J; 2010; 29 (2): 109-121.
11. Maria Jose Lorena de Menezes, DDS,MS, Cesar Augusto Galvao Arrais, DDS,MS; Influence of lighth-actived and auto- and dual polymerizing adhesive

systems on bond strength of indirect composite resin to dentin; The journal of prosthetic dentistry; 2006; Vol.96 Number 2; pp 115-120.

12. M.V. Roldán, A. L. Frattini; Metal Nanoparticles with different shapes. ANALES AFA Vol.17; 2005; pp.212-217.

13. Paul Holister, Jan-Willem Weener; Nanoparticles; Científica; October 2003; pp 2-11

14. Enrique Reyes Vela, Juan Pablo Loyola, Veronica Zavala-Alonso. Anatomic force microscopy observation of the enamel roughness and depth profile after phosphoric acid etching. Journal of Electron Microscopy; August 18, 2009; pag. 1-6.

15. Barrancos Money, 1999. Operatoria Dental. Editorial Panamericana. 3ª. Edición, Madrid. Pág. 452-454.

16. La evolución de la adhesión a dentina. Avances en odontoestomatología. 2004

17. Zaia A. Nakagawa R. De Quadros, I. An in vitro evaluation of four materials as barriers to coronal microleakage in root, filled teeth. Int., Endodon 202; 35: 729-34.

18. Howard M Fogel, Microleakage of root end filling material. JOE, 2001; 27:456-58.

19. Adamo H.L.R. Buruiana, A comparison of MTA, super EBA composite and amalgam as root end filling materials using a bacterial microleakage model. Int. Endo J 1999; 32:197-203

20. Barbero N. I.; Llana P. M.C.; Aportación metodológica al estudio del sellado apical. ENDODONCIA Vol. 17 No. 2 Abril-Junio 1999, Pág. 83-89

21. Krell KV; Madison S. Comparison of apical leakage in teeth obturated with a calcium phosphate cement or Grossman's cement using lateral condensation. JOE 1985; 11. 336-9.

22. Spangberg LSW, Acierno TG, Influence of entrapped air on the accuracy of leakage using dye penetration methods. JOE 1989; 15. 548-51.

23. Mortensen DW, Boucher NE. A method of testing for marginal leakage of dental restoration with bacteria. J Dent Res 1968; 44:58-63 .

24. Christopher F. Longitudinal sealing ability of MTA as a root end filling material JOE 1996, Vol. 22 (11) 575-78.

25. Beril K. Nimet G. A comparison of four different microleakage test for assessment of leakage of root canal fillings. *OOO* Vol. 102 No. 1 July 2006 pág. 110-113.
26. Dominique D., Marie Schiele; Marc M. Panighi. Penetration of microleakage of dental sealants in artificial fissures. *Journal of dentistry for children* 71 (1),2004: 41-44.
27. Use of a self-etching adhesive on previously etched intact enamel and its effect on sealant microleakage and tag formation, 2004. *J. Dent.* P. 163-171.
28. Michalet X, Pinaud F. Bentolila L. Quantum Dots for live cells, in vivo imaging and diagnostics. *SCIENCE* January 2005; 307: 538-44.
29. Quintana M.; Flores R. H.; Pérez E.; Palestino G. *CIENCIA (Revista de CONACYT)* Artículo aprobado. Nuevas tecnologías: semiconductores coloidales nanocristalinos (Dispositivos nanocristalinos) en la detección de sistemas biológicos con aplicaciones en la detección biológica.
30. Tay F, Gwinnett A, Pang D y Wei S. Variability in microleakage observed in a total etch wet-bonding technique under different handling conditions. *Journal of Dental Research* 1995. Vol. 74 (5): 1168-78.
31. Saboia V, Rodrigues AL, Pimenta L. Effect of collagen removal on shear bond strength of two single-bottle adhesive systems. *Operative Dentistry* 2000. Vol. 25: 395-400.
32. Toledano M. Osario R, Perdigao J, Rosales J, Thompson Y y Cabrerizo-Vilchez M. Effect of acid-etching and collagen removal on dentin wettability and roughness. *Journal of Biomedical Material Research*. 1999. Vol 47 (2): 198-203.
33. Adhesión en Odontología Restauradora; 2a Edición, Pablo F. Abate; Ernesto Borgia B., Adair Luiz Stefanello Busato. Editorial Médica.
33. Aguilar F. G, Drubi-Filho, Casemiro L. A., Watanabe M. G. C, Pires-de-Souza F.C.P. Retencion and penetration of a convencional resin-based sealant and a photocromatic flowable composite resin placed on occlusal pits and fissures. December 2007. *J Indian Soc Pedod Prevent Dent* pág. 169-173.

34. Ramirez P. Barceló F., Pacheco M., Ramirez F. Adhesión y micofiltración de dos selladores de fosetas y fisuras con diferente sistema de polimerización. Junio 2007. Revista Odontológica Mexicana, Vol. 11, P. 70-75.

