



**EFFECTOS EN LAS PROPIEDADES ADHESIVAS A DENTINA
IRRADIADA DE SISTEMAS ADHESIVOS MODIFICADOS CON Cu Y
Zn**

Trabajo de investigación para optar al título de Cirujano Dentista

Alumnos: Camila Concha M.

Haileen Leiva F.

Macarena Martínez C.

Camilo Vergara F.

Docente: Prof. Dr. Miguel Muñoz.

Cátedra de Operatoria Dental.

VALPARAÍSO – CHILE

2019

AGRADECIMIENTOS

Estos párrafos hacen mención y agradecimientos especiales a todas aquellas personas que fueron parte y ayudaron de una u otra forma para que este trabajo fuera posible:

En primer lugar al esfuerzo de nuestras familias, ya que son los protagonistas principales en cada una de nuestras etapas de vida. Es gracias a ellos que cada uno de nosotros se encuentra cumpliendo las metas, desafíos, sueños y proyectos.

A nuestro docente guía Dr. Miguel Muñoz, por confiarnos una parte importante de su gran proyecto de investigación, el cual sin duda alguna con el paso del tiempo, traerá grandes beneficios para mejorar la calidad de vida de las personas. Cabe mencionar que ha estado presente en cada etapa que hemos sorteado, a pesar de sus múltiples compromisos y responsabilidades, ha sabido dejarnos un lugar siempre que lo hemos necesitado.

A nuestros amigos y compañeros de Facultad que nos dieron palabras de aliento para poder seguir adelante, sin lugar a dudas son un pilar fundamental dentro de la vida universitaria, ya que nadie mejor que ellos para entender las dificultades que se presentan en el día a día.

Al personal del servicio de Oncología del Hospital Carlos Van Buren, por facilitarnos el equipo de radiación. Siempre tuvieron una excelente disposición para recibirnos fuera del horario de atención, manteniendo siempre un trato muy cordial a la espera del proceso de radiación.

A Dr. Joaquín Jaramillo por facilitarnos terceros molares para el proceso de investigación in vitro, sin esa ayuda habría sido difícil conseguir las muestras necesarias.

A los funcionarios de la Facultad de Odontología UV, quienes aportaron y facilitaron el desarrollo de nuestra tesis, así como también fueron una parte importante en nuestra formación académica y humana durante el pregrado.

ÍNDICE

CONTENIDO:

1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- MARCO TEÓRICO	2
2.1 Histología de los tejidos dentales	2
2.1.1 Esmalte	2
2.1.2 Dentina	2
2.1.3 Pulpa	2
2.2 Adhesión	3
2.2.1 Sistemas Adhesivos	3
2.2.2 Clasificación de los sistemas adhesivos:	3
2.2.3 Composición de los adhesivos dentales:	4
2.2.4 Adhesión dentaria	7
2.2.5 Interfase diente-restauración	8
2.3 Radioterapia	8
2.3.1 Efectos de la radioterapia	8
2.3.2 Tejido dentario irradiado	8
2.3.3 Caries de radiación	9
2.3.4 Saliva	9
2.3.5 Consecuencias de la radioterapia sobre la adhesión dentaria	10
2.4 Uso de nanopartículas metálicas en Odontología	10
2.4.1 Nanopartículas de Cu	10
2.4.2 Nanopartículas de Zn	10
2.5 Grado de conversión de las resinas compuestas	11
3. OBJETIVO	12

4. HIPÓTESIS	12
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	12
6. MATERIALES Y MÉTODOS	13
6.1 Selección de la muestra	13
6.2 Dosis de radiación	13
6.3 Criterios de inclusión	15
6.4 Criterios de exclusión	16
6.5 Variables	16
6.6 Preparación de los cuerpos de prueba	18
6.7 Proceso de radiación	19
6.8 Preparación de la muestra de dentina	21
6.9 Protocolo adhesivo (Etch & Rinse)	21
6.10 Restauración y corte de cuerpos de prueba de dentina	22
6.11 Prueba de microtracción resina-dentina	22
6.12 Grado de conversión de adhesivos experimentales	26
7. RESULTADOS	27
7.1 Adhesivo con HEMA	27
7.2 Adhesivos HEMA free	28
7.3 Grado de conversión de los adhesivos	30
7.4 Patrones de fractura	
8. DISCUSIÓN	32
9. CONCLUSIONES	37
10. LIMITACIONES Y SUGERENCIAS	38
11. CONFLICTOS DE INTERESES	38
12. RESUMEN	39

1.- INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las enfermedades más prevalentes, siendo la causante de 9,6 millones de muertes a nivel mundial durante el año 2018⁽¹⁾. En Chile, el 21,8% de las muertes que ocurren cada año son producto del cáncer⁽²⁾. Dentro de los distintos tipos de cánceres encontramos el de cabeza y cuello, el cual corresponde a un 3% del total de estas patologías⁽³⁾. El tratamiento de elección generalmente es la cirugía, pudiendo estar o no asociada a quimioterapia y/o radioterapia⁽⁴⁾. El presente trabajo se enfocará en los efectos secundarios que generan los principales tratamientos de cáncer a nivel bucal, específicamente centrada en la radioterapia, la cual se sabe por la literatura que genera una serie de complicaciones orales, tales como mucositis, hiposalivación, caries de radiación, osteoradionecrosis, entre otras⁽⁵⁾.

La caries de radiación es una de las consecuencias principales del tratamiento con radioterapia a nivel oral, afectando generalmente la zona cervical dentaria y viéndose potenciada por otros factores como la hiposalivación generada por este mismo tratamiento⁽⁶⁾⁽⁷⁾. Se caracteriza por tener rápido progreso y ser altamente destructiva, por lo que el tratamiento oportuno se hace imperativo para aumentar el ciclo vital de los dientes afectados.

Kielbassa ha descrito que la respuesta pulpar se ve comprometida producto de la radiación de cabeza y cuello, afectando directamente la función de los odontoblastos⁽⁷⁾. La experimentación in vitro en tejidos dentales ha logrado demostrar que hay un efecto negativo sobre ellos al ser sometidos a radiación ionizante, generando perjuicios en la interfase diente-restauración y por ende, nace la necesidad de crear un biomaterial que contrarreste estos perjuicios.

Dentro de los agentes químicos con propiedades antibacterianas están las nanopartículas de Cobre (Cu), las cuales han sido ampliamente investigadas, pero su uso en biomateriales dentales no ha sido explotado, abriendo una ventana de investigación relevante para los futuros estudios⁽⁸⁾. Por otra parte, también encontramos la nanopartículas de Zinc (Zn), las cuales generarían una modulación de la actividad de las metaloproteinasas de la matriz (MMP) mediante diferentes mecanismos de acción que aún se encuentran en estudio.

Es por esto que la formulación de un adhesivo dental que presente dentro de sus componentes nanopartículas de Cu y Zn pareciera ser una propuesta viable para contrarrestar los efectos negativos generados por la radiación ionizante en la interfase diente-restauración.

2.- MARCO TEÓRICO

2.1 Histología de los tejidos dentales

2.1.1 Esmalte

El esmalte es un tejido altamente mineralizado presentando un 95% de materia inorgánica (principalmente cristales de hidroxiapatita), 1,8% de su composición corresponde a tejido orgánico (principalmente proteínas y lípidos) y un 3,2% de agua que se ubica en la periferia de los cristales, disminuyendo su cantidad con el paso del tiempo ⁽⁸⁾⁽⁹⁾. La generación de este tejido depende de células llamadas ameloblastos, las cuales sólo se encuentran presentes hasta la erupción dentaria, razón por la cual este tejido no podría volver a formarse nuevamente ⁽¹⁰⁾.

2.1.2 Dentina

Presenta un 70% de materia inorgánica, 12% de agua y un 18% de contenido orgánico. Se compone de una red tubular que separa la pulpa de la unión amelodentinaria y cementodentinaria. Una de las grandes diferencias con el esmalte, es la característica de permanecer metabólicamente activa durante el ciclo vital dentario, por lo que gracias a células odontoblásticas, aún después de la erupción posee la capacidad de seguir generando este tejido ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾.

Tipos de dentina:

- Dentina primaria: Toda dentina producida durante la dentinogénesis, la cual ocurre previo a la erupción dental y hasta el comienzo de la función oclusal ⁽¹¹⁾.
- Dentina secundaria: Es la dentina que se produce a lo largo de la vida, ante eventos de traumas o irritación de avance crónico. Los túbulos dentinarios se obliteran a partir de una hipercalcificación ⁽¹¹⁾.
- Dentina terciaria: Se genera una deformación de la cámara pulpar, generando una dentina amorfa a partir de los odontoblastos directamente relacionados y cuya única función es impedir el paso del estímulo nocivo hacia la pulpa en la zona afectada por la noxa ⁽¹¹⁾.

2.1.3 Pulpa

Tejido de tipo conectivo laxo especializado, altamente vascularizado e innervado. Dentro de su composición encontramos 75% agua y un 25% de materia orgánica, la cual va variando con el paso de los años producto de la pérdida de agua y de la calcificación de los tejidos que la rodean ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾.

2.2 Adhesión

2.2.1 Sistemas Adhesivos

Los adhesivos son materiales utilizados en la odontología restauradora con la finalidad de ser aplicados sobre los tejidos dentarios y generar retención de las restauraciones mediante unión micromecánica y química ⁽¹²⁾.

Según Norling (2004), las 3 funciones principales de los sistemas adhesivos en Odontología, son:

- Conservar y preservar más estructura dentaria.
- Conseguir una retención óptima y duradera.
- Evitar microfiltraciones ⁽¹³⁾.

2.2.2 Clasificación de los sistemas adhesivos:

En la literatura podemos hallar múltiples formas de clasificar los sistemas adhesivos utilizados en Odontología.

Clasificación de los sistemas adhesivos según técnica de acondicionamiento ácido:

- Etch and Rinse: Estos sistemas requieren de una fase previa de grabado ácido. Este proceso elimina la capa de smear layer, lo cual facilita la interacción del adhesivo con la red colágena expuesta, garantizando la infiltración del adhesivo y sellado de los túbulos dentinarios y así brindar la retención micromecánica a través de los "tags" de resina ⁽¹⁴⁾.
- Self etch: Estos sistemas se caracterizan por monómeros ácidos que no necesitan lavado. El smear layer se altera pero no se elimina; disminuyendo la capacidad de penetración de los monómeros adhesivos y con ello reduciendo el riesgo de sensibilidad postoperatoria. Se han popularizado debido a su simplicidad técnica ^{(15) (16)}.

De esta clasificación, podemos obtener una subdivisión en base a número de pasos y cantidad de botellas que contienen los sistemas adhesivos.

Número de pasos	Cantidad de botellas	Descripción
3 pasos	3 ó 4*	Agente grabador, primer y adhesivo en botellas separadas
2 pasos + grabado previo	2 ó 3*	Primer y adhesivo en misma botella
2 pasos + autograbante	2	Primer ácido produce grabado y penetración del agente en un paso. En botella aparte se encuentra adhesivo
1 paso	1	Agente grabador, primer y adhesivo se encuentran en la misma botella

Tabla I. Subdivisión de clasificación de sistemas adhesivos según técnica de acondicionamiento.

*Algunos primer presentan dos botellas que se mezclan previo a la aplicación.

Clasificación de los sistemas adhesivos según sistema de activación:

- Fotoactivados
- Activados químicamente
- De doble activación (dual)

2.2.3 Composición de los adhesivos dentales:

- Agente grabador: El más frecuentemente utilizado en Odontología es el ácido ortofosfórico al 37%. En menor frecuencia se utilizan ácidos débiles, tales como el ácido cítrico, maleico, entre otros. También se ha implementado el uso de resinas alcídicas, tales como el Fenil-Fosfato y

MDP, los cuales actúan como grabadores en los adhesivos autograbantes^{(12) (17)}.

- Primer o imprimador: Son soluciones hidrofílicas que tienen afinidad con la humedad dentinaria. Poseen en su composición solventes orgánicos a los que se les adicionan monómeros hidrofílicos. El primer ayuda al transporte de estos monómeros al interior de la dentina que ha sido desmineralizada durante el proceso adhesivo. Los solventes del primer desplazan los fluidos presentes en el interior del tejido, penetrando en los poros que presenta el mismo. Participan en la evaporación de agua y permiten que los monómeros hidrofílicos tomen contacto con las fibrillas de colágeno^{(12) (17)}.
- Componentes resinosos
 - MDP (Metacriloxyetilhidrógeno fosfato): Se utiliza principalmente como un monómero grabador gracias a su grupo di-hidrógeno-fosfato, el cual puede disociar el agua en dos protones. Por lo tanto, el etanol y la acetona son sus solventes más apropiados. También es relativamente estable ante la hidrólisis⁽¹²⁾.
 - HEMA (2-hidroxietilmetacrilato): Es un monómero hidrofílico ampliamente utilizado en el campo médico y odontológico gracias a su buena biocompatibilidad. No puede usarse como agente desmineralizante, pero su comportamiento hidrofílico ayuda a la adhesión. Además de esto, se adiciona a los sistemas adhesivos dada su naturaleza similar a los solventes, lo que ayuda a dar estabilidad a las soluciones con componentes hidrofóbicos e hidrofílicos, manteniendo así los ingredientes en solución^{(12) (17)}.
 - 4-META (4-metacriloxyetil trimetacrilato): Se presenta su uso como agente adhesivo en el año 1990 por la empresa Parkell con su producto Amalgambond®. Este monómero permite la adhesión entre amalgama-amalgama, dentina y composite. También se utiliza de forma frecuente como un monómero promotor de la adhesión y como un monómero desmineralizante. El 4-META es reconocido por mejorar la humectación de los metales, como por ejemplo los de la amalgama. Autores han reportado que gracias a esta propiedad existe mejora en la adhesión a esmalte⁽¹²⁾.
- Sistemas inhibidores: Los sistemas inhibidores que se adicionan a las resinas compuestas son antioxidantes que eliminan radicales libres originados a partir de la reacción prematura de los iniciadores. En el caso de los adhesivos, los usados con mayor frecuencia son el hidroxitolueno butilado (BHT) y el monometil éter hidroquinona (MEHQ)⁽¹²⁾.

- **Sistemas iniciadores**
 - **Iniciadores químicos:** Los adhesivos de activación química requieren en su composición la adición de un co-iniciador en conjunto al iniciador. En estos adhesivos el iniciador y el co-iniciador vienen en contenedores aparte, por lo que deben ser mezclados antes de la aplicación en la superficie dentaria. El más común de los iniciadores químicos en las resinas compuestas es el peróxido de benzoilo (BPO) en conjunto a una amina terciaria. El BPO reacciona con la amina como un co-iniciador ⁽¹²⁾.
 - **Fotoiniciadores**
 - **Canforquinona/sistema co-iniciador:** Es una alfa-dicetona iniciador de la polimerización de los radicales libres. Es de los fotoiniciadores más comunes en adhesivos y resinas compuestas, estando asociados a un co-iniciador. La canforquinona absorbe un amplio espectro de longitudes de onda de luz, desde los 360-510 nm, siendo su peak 468 nm, que corresponde a la luz azul ⁽¹⁸⁾.
- **Solventes:** La dentina es un tejido húmedo, por lo que para tener una buena adhesión requerimos de componentes hidrofílicos ⁽¹⁹⁾. Por esto, cuando se agregan monómeros hidrofílicos a los adhesivos, además del solvente, el comportamiento húmedo del adhesivo se ve drásticamente mejorado ⁽²⁰⁾.
 - **Agua:** El agua es un fuerte solvente polar, capaz de disolver iones y compuestos polares, pero presenta pobre capacidad de disolver componentes orgánicos como los monómeros presentes en las resinas. Es por este motivo que para mejorar la capacidad solvente del adhesivo se agrega adicionalmente un solvente secundario, tales como etanol o acetona ⁽¹²⁾.
 - **Etanol:** Al tener una constante dieléctrica más baja, el etanol es el solvente más apropiado para solutos menos polares ⁽¹²⁾.
 - **Acetona:** El momento dipolar de la acetona en combinación con su constante dieléctrica, permite la disolución mutua de partículas polares y apolares ⁽¹²⁾.
- **Relleno:** Por definición las resinas compuestas contienen partículas de relleno, pero no es siempre así para los adhesivos. Los adhesivos que contienen relleno mencionan que lo contienen en su composición, mismo caso si no lo contienen. Los sistemas adhesivos para la adhesión de

restauraciones directas a tejidos dentarios de forma tradicional no presentan partículas de relleno ⁽¹²⁾. Su propósito en la composición de los adhesivos es otorgar propiedades mecánicas mejoradas. Gracias a la presencia de relleno en los adhesivos se logra con mayor facilidad obtener adecuados grosores de capa, debido a que tienen menor fluidez ⁽¹⁷⁾.

2.2.4 Adhesión dentaria

Se entiende como un proceso de unión entre dos materiales diferentes que se unen por una fuerza física, química o por ambas ⁽²¹⁾. La evaluación de los resultados de los adhesivos experimentales se llevará a cabo mediante pruebas de microtracción, las cuales darán como resultado valores expresados en megapascales.

- Adhesión en esmalte: Como primer factor, tenemos que realizar un tratamiento de superficie que beneficie el proceso de adhesión del material dental, el cual está directamente relacionado con el grabado ácido, que transforma una superficie lisa en irregular y generará un aumento de la energía superficial del esmalte ⁽²¹⁾.

Para este estudio se utilizó ácido ortofosfórico (H₃PO₄), siendo uno de los más compatibles con el tejido dentario (ni exceso ni déficit de reactividad). La concentración a la cual se utilizará es al 37% para lograr una adecuada superficie porosa de aproximadamente 10 a 70 um y favorecer la adhesión ⁽²¹⁾ ⁽²²⁾.

Los sistemas de adhesión para esmalte dependen principalmente de la formación de tags resinosos que se crean en las irregularidades superficiales producidas por el grabado ácido, siendo el principal factor de adhesión del esmalte. Los nano tags formados son los de mayor importancia puesto que son más numerosos y dan una mayor superficie de contacto ⁽¹⁰⁾.

- Adhesión en dentina: La adhesión a dentina es más compleja de lograr que a nivel de esmalte, principalmente por su compleja estructura y variable composición ⁽²³⁾. Otros factores que dificultan la adhesión a dentina, son: mayor humedad (lo que imposibilita tener un medio seco para restaurar), posición de la dentina, tipo de dentina, presencia de smear layer (lo que oblitera los túbulos dentinarios generando los smear plugs), presencia de presión intrapulpal positiva, la alteración de las fibras colágenas a causa de la preparación dentaria y/o eliminación de caries a causa del calor y trauma ⁽¹⁰⁾⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾.

- Smear layer: Los residuos orgánicos e inorgánicos forman un "smear layer" en la superficie dentinaria cada vez que se prepara la dentina con una fresa u otro instrumento. La capa de smear layer penetra los túbulos dentinarios formando los "smear plugs", disminuyendo la permeabilidad de la dentina hasta en 86% ⁽²⁶⁾.

2.2.5 Interfase diente-restauración

Las resinas compuestas son de uso frecuente en la Odontología restauradora. Los fracasos más frecuentes de estas restauraciones son a causa de caries secundarias (caries que se producen adyacentes a las restauraciones producto de la acumulación de biofilm en la interfase diente-restauración) y fracturas del material restaurador, representando un 90% de las fallas de las restauraciones de resina compuesta. Para disminuir el caso de fallas a causa de caries secundarias, se ha planteado la posibilidad de utilizar materiales con propiedades antibacterianas para combatir las bacterias patógenas que se localizan en esta interfase ⁽²⁷⁾.

2.3 Radioterapia

La radioterapia es una de las principales alternativas de tratamiento cuando se trata de patologías cancerosas de cabeza y cuello. Este procedimiento tiene como agente terapéutico la radiación ionizante, la cual genera una serie de consecuencias nocivas en los pacientes ⁽¹⁴⁾. Dentro de los agentes terapéuticos que pueden usarse durante la radioterapia, encontramos electrones, protones, neutrones, radiación electromagnética (fotones) en forma de rayos X y rayos gamma. Principalmente durante la radioterapia se usan fotones, específicamente rayos X ⁽²⁸⁾.

El mecanismo de acción de la radiación ionizante es a nivel del ADN nuclear de las células a causa de la disociación de los iones de agua, lo que genera radicales libres. Esto lleva a la pérdida de la facultad de reproducción celular, por lo tanto, las células de recambio rápido (como las células cancerosas, y las células a nivel oral) son más radiosensibles que las de recambio lento ante este procedimiento ⁽²⁸⁾.

2.3.1 Efectos de la radioterapia:

La radioterapia afecta tanto a células malignas como a células sanas del organismo, por lo que se presentan una serie de consecuencias a nivel sistémico en los individuos que se someten a este tratamiento. Los efectos colaterales de la radioterapia a nivel oral pueden dividirse en 2 grupos: los efectos temporales (mucositis, candidiasis, disgeusia, ageusia, dermatitis, trismus, xerostomía, hiposalivación y disfagia) y los efectos tardíos o permanentes (xerostomía, hiposalivación, caries de radiación, disfagia, osteorradionecrosis) ⁽⁵⁾.

2.3.2 Tejido dentario irradiado:

- Esmalte irradiado: Además de la destrucción a nivel de la unión amelodentinaria, se han encontrado diferencias micro-morfométricas en la naturaleza de desmineralización del esmalte irradiado; esto indicaría que el esmalte es menos resistente a los ataques ácidos post radiación ⁽²⁹⁾. El esmalte se hace propenso a la desmineralización desde un pH de 5.5 hacia abajo, por lo que el medio ácido producto de la radioterapia haría más factible la desmineralización⁽³⁰⁾.
- Dentina irradiada: Las alteraciones estructurales del tejido dentario aumentan proporcionalmente con la dosis de radiación a la cual es sometida; en dentina podemos observar un aumento de la obliteración de túbulos dentinarios así como también la fragmentación de fibrillas de colágeno ⁽³¹⁾. Esto resulta en una reducción significativa de dureza, resistencia al desgaste, resistencia a la tracción, y estabilidad de la unión amelo-dentinaria ⁽³²⁾. Estudios recientes han demostrado que el tratamiento de radioterapia de cabeza y cuello es capaz de aumentar las formas activas de metaloproteinasas de matriz (MMP-20) en dientes irradiados, esta proteasa degrada amelogenina, colágenos tipo IV y V, fibronectina, laminina y tenascina-C; promoviendo la progresión de la caries, así como también la degradación de la interfase diente restauración ⁽³³⁾.

2.3.3 Caries de radiación

Se caracterizan clínicamente por presentarse principalmente en cervical de caras libres y zona radicular, formando cavidades y/o manchas de color café ⁽⁵⁾.

Uno de los principales factores que favorecen el desarrollo del proceso de caries es la disminución de cantidad y calidad del flujo salival, siendo este riesgo para toda la vida al igual que la osteorradionecrosis^{(28) (34) (35)}.

2.3.4 Saliva

En el proceso de remineralización se requieren dos principales sustratos: el calcio y el fosfato. La saliva es la principal fuente de estos iones, por lo que cualquier disminución del flujo salival tiene efectos sobre la posibilidad de remineralización dentaria ⁽³⁶⁾.

Durante el tratamiento del cáncer de cabeza y cuello se pueden utilizar diversos fármacos que generan hiposalivación, tales como agentes quimioterapéuticos, analgésicos opioides y antidepresivos ⁽³⁷⁾.

Para saber si nos encontramos en normalidad, sabemos que pacientes sanos no sometidos a radioterapia el flujo salival es de aproximadamente 1 ml/min. Luego de una a dos semanas de iniciado el proceso de radioterapia este mismo flujo salival puede descender a valores iguales o menores a 0.5 ml/min⁽³⁸⁾.

La radiación presenta un rápido efecto a nivel de glándulas salivales, generando saliva más espesa que dificulta el normal funcionamiento estomatognático (masticación, habla, disgeusia aumento de riesgo cariogénico).

En las primeras 2 semanas de tratamiento de radioterapia con una acumulación de 20 Gy se pierde aproximadamente un 80% de la función de las glándulas salivales ⁽³⁹⁾. Otros estudios indican que el daño a los tejidos salivales serían permanentes si las dosis acumulativas de radiación que exceden los 30 Gy ⁽⁴⁰⁾. También post radioterapia a causa de una pérdida de la acción buffer de la saliva, tenemos una acidificación del medio, incluso encontrándose pHs de 5, lo que propicia la actividad cariogénica ⁽⁴¹⁾.

2.3.5 Consecuencias de la radioterapia sobre la adhesión dentaria:

El sustrato dentinario experimenta efectos estructurales tras el tratamiento de radiación, esto podría perjudicar la formación de la capa híbrida; comprometiendo la capacidad y resistencia de la unión así como también aumentando el número de fallas cohesivas en la interfase ⁽³²⁾.

2.4 Uso de nanopartículas metálicas en Odontología

2.4.1 Nanopartículas de Cu:

Se han desarrollado ensayos antibacterianos en donde se ha descrito que nanopartículas de óxido de Cu actúan como excelentes agentes antibacterianos ante bacterias Gram positivas y Gram negativas. Las nanopartículas, gracias a su pequeño tamaño, pueden atravesar los poros nanométricos de las membranas celulares bacterianas, degradando así el citoplasma, lo que finalmente conlleva a la muerte celular ⁽⁴²⁾.

El desafío de generar materiales odontológicos con nanopartículas metálicas, como por ejemplo nanopartículas de Cu, es mantener la estabilidad de sus componentes, además de sus propiedades antibacterianas. Se debe encontrar un medio que dé estabilidad a las nanopartículas: para esto, se pueden utilizar matrices poliméricas como la de las resinas compuestas y sistemas adhesivos ⁽⁸⁾.

2.4.2 Nanopartículas de Zn:

Las metaloproteinasas de la matriz son una familia de proteasas Zn-dependientes. Se encuentran a cargo de remodelación de proteínas de la matriz extracelular de los tejidos ⁽⁹⁾, angiogénesis, el desarrollo embrionario, del tejido conjuntivo, la ovulación y la cicatrización de heridas ⁽⁴³⁾. Además se ha reportado que las MMP están involucradas en variados tipos de procesos inflamatorios severos y destructivos, como la artritis reumatoide, caries, gingivitis, enfermedad periodontal, metástasis de cáncer, úlceras a nivel de piel y mucosa, entre otras ⁽⁴⁴⁾. Durante el curso de diversas patologías como las anteriormente mencionadas se

presenta un desequilibrio entre MMP y los moduladores inhibitorios endógenos, lo que hace propicio el desarrollo de las enfermedades ⁽⁴⁵⁾. Para que esto ocurra, las MMPs producidas e incorporadas durante la dentinogénesis a la matriz extracelular del complejo dentino pulpar que se encuentran en estados inactivos requieren acción catalítica para comenzar su función ⁽⁴⁵⁾⁽⁴⁶⁾.

Por ejemplo, las MMP del individuo de origen pulpar actúan en el fondo de la caries generando una sinergia con el proceso cariioso proteolítico de la matriz orgánica dentinaria⁽⁹⁾. En otras patologías que se asocian a caries, como por ejemplo Síndrome de Sjogren, las MMP de la saliva están incrementadas. Se aumentan las colagenasas y la actividad de MMP-9. En los casos de radioterapia de cabeza y cuello se incrementa la actividad de MMP-9, además de disminuir el pH salival⁽⁴⁷⁾.

La importancia de conocer el mecanismo de acción de las MMP radica en que al poder modular la activación y desactivación de su actividad, por ejemplo, a través de enzimas con inhibidores sintéticos, podríamos mediar diferentes patologías que se derivan del desequilibrio éstas⁽⁹⁾⁽⁴⁸⁾. Una estrategia que se ha propuesto para aumentar la longevidad de las restauraciones adhesivas es inhibir la degradación inducida por las MMPs del colágeno dentinario, situación que se ha reportado disminuida al producirse una menor expresión de MMPs al aplicar Zn y otros metales divalentes en los adhesivos utilizados en estas restauraciones⁽⁴⁹⁾.

2.5 Grado de conversión de las resinas compuestas

El inicio de la polimerización de las resinas compuestas ocurre gracias a la absorción de luz en un rango de longitud de onda de 400 a 500 nm por parte del material. Luego de la fotoactivación, se produce una reacción de la amina alifática que genera radicales libres. El grado de conversión se define como el número de dobles enlaces de carbón (C=C) presente en los monómeros que han sido transformados a enlaces simples (C-C) para formar cadenas de polímeros durante el proceso de polimerización⁽⁵⁰⁾.

Es decir, el grado de conversión está determinado por la proporción entre la concentración de dobles enlaces alifáticos C=C remanentes en una muestra de resina fotopolimerizada, en relación al número total de dobles enlaces C=C en material no curado⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾⁽⁵³⁾.

El grado de conversión de las resinas compuestas es un parámetro muy importante para determinar las propiedades que tendrá una resina al ser fotopolimerizada⁽⁵⁴⁾, es por ello que requieren de una correcta fotoactivación que permita una adecuada conversión de monómeros a polímeros para que así las restauraciones presenten las mejores propiedades físicas, químicas y mecánicas posibles⁽⁵⁵⁾⁽⁵⁶⁾, evidencia que coincide con lo dicho por Moraes, donde asegura

que las propiedades físicas y mecánicas de las resinas fotocurables son directamente influenciadas por el grado de conversión de monómeros a polímeros⁽⁵³⁾.

Varios estudios han demostrado que una incorrecta polimerización contribuye a una variedad de condiciones clínicas negativas en las resinas, tales como decoloración del material, irritación pulpar, sensibilidad postoperatoria e incluso una eventual falla en las restauraciones⁽⁵⁷⁾⁽⁵⁸⁾⁽⁵⁹⁾.

3. OBJETIVO

- Evaluar in vitro la resistencia de unión (MPa) y grado de conversión de polimerización (%) de adhesivos experimentales (Cu I, CuI-Zn, Cu II, Cu II-Zn) versus adhesivos convencionales (HEMA y Libre de HEMA) en dentina irradiada y no irradiada.

4. HIPÓTESIS

- H0: La resistencia de unión (MPa) y grado de conversión de polimerización (%) de adhesivos experimentales sobre dentina irradiada y no irradiada no son diferente a adhesivos convencionales.
- H1: La resistencia de unión (MPa) y grado de conversión de polimerización (%) de adhesivos experimentales sobre dentina irradiada y no irradiada son diferentes a adhesivos convencionales.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Poseen igual resistencia de unión (MPa) y grado de conversión de polimerización (%) los adhesivos experimentales (Cu I, Cu I-Zn, Cu II, Cu II-Zn) en comparación con adhesivos convencionales (HEMA y Libre de HEMA) sobre dentina irradiada y no irradiada?

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se enmarca dentro de las actividades del proyecto FONDECYT Regular año 2016 N°1161435: “Estudio del impacto en los tejidos dentales duros y evaluación in vitro de nuevas estrategias restauradoras para la rehabilitación de pacientes irradiados por cáncer de cabeza y cuello” contando con la aprobación hasta el año 2020 del Comité de Ética institucional de la Universidad de Valparaíso bajo el número de aprobación extendida CEC126-16.

6.1 Selección de la muestra:

Para calcular la muestra se replicaron los protocolos disponibles en la literatura para determinar el valor referencial del grupo control como medida continua de 32,5 MPa, siendo calculada una magnitud de efecto por equivalencia no mayor de 50 MPa, con un poder (1-beta) de 80% y un nivel de significancia (alfa) de 5%. Resultando un total de 5 unidades experimentales por grupo (n=5), sobre los cuales los test deben ser aplicados.

La fórmula utilizada para realizar el cálculo fue:

$$n = f(\alpha, \beta/2) \times 2 \times \sigma^2 / d^2$$
$$f(\alpha, \beta) = [\Phi^{-1}(\alpha) + \Phi^{-1}(\beta)]^2$$

Donde σ es la desviación estándar, y Φ^{-1} es la función acumulativa de función de la desviación normal estandarizada.

6.2 Dosis de radiación

Los dientes seleccionados fueron separados en grupos para ser analizados según el tipo de adhesivo y radiación ionizante a utilizar en la dentina.

Grupo según tipo de adhesivo utilizado	Tipo de grupo	Descripción	Cantidad de sujetos en el grupo
Grupos sometidos a radiación (70 Gy) Prime and Bond 2.1			
Convencional (n=5)	Experimental	Restauración de diente sano posterior a aplicación de 70 Gy con adhesivo	25
Cu I (n=5)			
Cu II (n=5)			
Cu I + Zn (n=5)			
Cu II + Zn (n=5)			
Grupos sometidos a radiación (70 Gy) XP Bond			
Convencional (n=5)	Experimental	Restauración de diente sano posterior a aplicación de 70 Gy con adhesivo	25
Cu I (n=5)			
Cu II (n=5)			
Cu I + Zn (n=5)			

Cu II + Zn (n=5)			
------------------	--	--	--

Grupos no sometidos a radiación (0 Gy)
Prime and Bond 2.1

Convencional (n=5)	Control	Restauración de diente sano sin sometimiento a radiación	25
Cu I (n=5)			
Cu II (n=5)			
Cu I + Zn (n=5)			
Cu II + Zn (n=5)			

Grupos no sometidos a radiación (0 Gy)

XP Bond			
Convencional (n=5)	Control	Restauración de diente sano sin sometimiento a radiación	25
Cu I (n=5)			
Cu II (n=5)			
Cu I + Zn (n=5)			
Cu II + Zn (n=5)			

Tabla II. Metodología en la que la muestra fue agrupada para realizar la experimentación según tipo de adhesivo y radiación.

6.3 Criterios de inclusión:

- Terceros molares íntegros y sanos.
- Terceros molares obtenidos bajo consentimiento informado.
- Terceros molares almacenados bajo congelación.

6.4 Criterios de exclusión

- Terceros molares cariados.
- Terceros molares con dentina esclerótica.
- Terceros molares sometidos a odontosección.
- Terceros molares no congelados o almacenados bajo otros medios

6.5 Variables

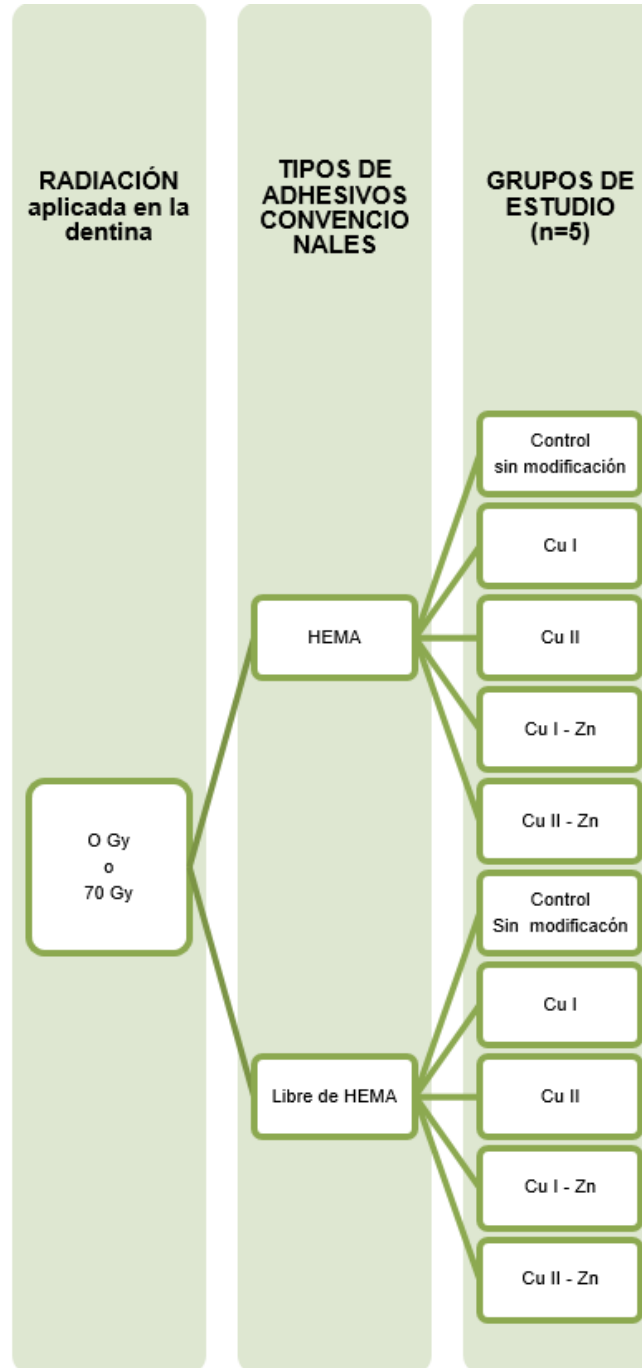
Variable	Tipo de variable	Unidad de medida	Definición conceptual	Definición operacional
Dosis de radiación	Cuantitativa discreta	Gray (Gy)	Es la cantidad de radiación que absorbe un tejido biológico que es penetrado por radiación ionizante	Es la dosis a la que sometió la muestra, a modo de simular la cantidad de radiación que se aplica de forma gradual en los tratamientos contra el cáncer.
Adhesivo	Cualitativa nominal	-	Material que se aplica a modo de fina capa, para adherir el material restaurador al diente	<p>Adhesivos convencionales: sin nanopartículas metálicas.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● XP Bond ● Prime and Bond 2.1 <p>Adhesivos experimentales: Marcas XP Bond y Prime and Bond 2.1 con nanopartículas metálicas de Cu y Zn.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Cu I ● Cu II ● Cu I - Zn ● Cu II Zn

Resistencia de unión adhesiva	Cuantitativa nominal	Megapascales (MPa)	Capacidad que tiene una restauración para oponerse al desalajo ante fuerzas extrusivas	Resistencia microtraccional de la interfase diente Restauración.
-------------------------------	----------------------	--------------------	--	--

Tabla III. Variables del estudio.

6.6 Preparación de los cuerpos de prueba

Se utilizaron 100 terceros molares, los cuales fueron donados por pacientes atendidos en pabellón de Cirugía de la Facultad de Odontología UV y del Hospital del Niño de Viña del Mar, extraídos por indicación terapéutica, previamente aceptando el consentimiento informado. Para la etapa de caracterización, los 100 molares serán distribuidos en 18 grupos, según:



6.7 Proceso de radiación

Los grupos de distintos adhesivos fueron sometidos a dosis únicas de 70 Gy para simular la dosis de la radioterapia en pacientes que padecen cáncer de cabeza y cuello. El procedimiento de la radiación fue posible gracias a la colaboración de la Dra. Ximena Quintanela Dávila, participante del actual proyecto, quien facilitó el uso del equipo de radioterapia ubicado en la Unidad de Oncología del Hospital Carlos Van Buren, para fines de la investigación. El procedimiento fue estandarizado por 3 Físicos Médicos de la institución; Juan Carlos Leal, Isabella Liedtke y Andrés Vásquez, quienes determinaron como suministrar la dosis prescrita y calcularon tiempo necesario para que el acelerador lineal (Acelerador Lineal modelo Versa HD, marca Elekta, Suecia) genere la dosis específica, respetando protocolos de bioseguridad.

A modo de lograr reproducibilidad en cada sesión de radiación de nuestras muestras, los terceros molares de cada grupo se posicionaron en el centro de un contenedor plástico seleccionado para usarse durante todos los procesos de radiación durante este trabajo. Se planificó abarcar un campo ionizado de 20x20 cm del contenedor con 5 cm de altura de agua potable. El planificador (Software del Acelerador lineal) entrega en cada piteo 10 Gy por los 5 centímetros de agua. La fuente de rayos X se ubicó perpendicular y a 100 cm del agua del recipiente. Bajo el contenedor plástico se posicionó placas de agua equivalente con el propósito de equilibrar la retrodispersión de los rayos; de este modo los terceros molares recibieron una dosis plana y uniforme de radiación.



Figura 1. Acelerador lineal modelo Versa HD. Marca Elekta.

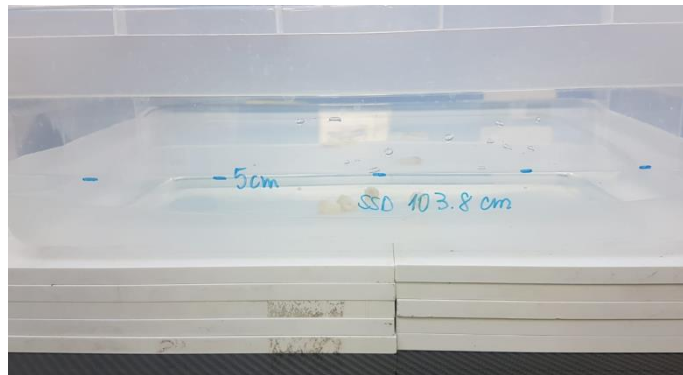


Figura 2. Contenedor plástico rotulado para definir los 5 cm de altura de agua necesarios, con placas de agua equivalente bajo éste.

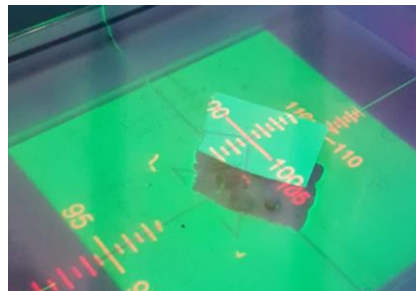


Figura 3. Dientes posicionados en centro del área ionizada con ayuda de regla láser.

6.8 Preparación de la muestra de dentina

A cada diente se le eliminó el esmalte con un disco de diamante de 10", dejando una superficie plana con exposición de la dentina.

La superficie coronal de cada diente se pulió, utilizando una lija al agua #600 bajo un chorro de agua, realizando amplios movimientos circulares en sentido horario durante 60 segundos, de este modo, lograremos simular la formación de la smear layer. Acabado esto, se dió paso al protocolo establecido de restauración con resina compuesta, utilizando los diferentes tipos de adhesivos. Todos los procedimientos adhesivos y restauradores fueron realizados por un único operador.

6.9 Protocolo adhesivo (Etch & Rinse)

La composición de los materiales utilizados para el procedimiento adhesivo y restaurador:

- Ácido fosfórico (FGM, Joinville, Brasil): es un gel de base acuosa que contiene ácido fosfórico al 37%.
 - Adhesivo XP Bond (Dentsply Sirona, Nueva York, Estados Unidos): es un adhesivo universal de grabado total, cuyos componentes son: dimetacrilato modificado con ácido carboxílico, PENTA, UDMA, TEGDMA, HEMA, Benzenediol butilado, 4-Dimetilamino benzoato de etilo, Canforquinona, Sílice amorfo funcionalizado; Butanol terciario.
 - Adhesivo Prime and Bond 2.1 (Dentsply, Nueva York, Estados Unidos): sistema adhesivo universal, cuyos componentes son: UDMA, PENTA; Resina R5-62-1, Canforquinona, Etil Dimetil Aminobenzoato, Butil Hidroxitolueno, Bisfenol A dimetacrilato Pó, Fluoridrato de Cetilamina e Acetona PA.
 - Resina compuesta Opalis (FGM, Joinville, Brasil): resina compuesta nanohíbrida indicada para la restauración directa de dientes anteriores y posteriores, cuyos Ingredientes Activos: Monómeros de Bis-GMA , Bis EMA, TEGDMA, UDMA, Canforquinona, co-iniciador y silano. Ingredientes inactivos: Vidrio de Bario-alumino silicato silanizado, pigmentos y silicas.
1. Secado de la superficie dentinaria con una toalla de papel, a modo de palpaciones.
 2. Grabado con ácido ortofosfórico al 37% durante 15 segundos en dentina.
 3. Lavado por 15 segundos con agua y secado con jeringa triple durante 5 segundos. (La distancia entre la jeringa triple y la superficie dentinaria fue estandarizada a 10 cms).
 4. Aplicación de adhesivo convencional o experimental según su grupo, con microaplicador (Cavibrush FGM, Joinville, Brasil), el cual se frotó en la superficie durante 20 segundos, y posteriormente aireado por 5 segundos.

El adhesivo fue aplicado en estricta conformidad con las instrucciones del fabricante.

5. Fotopolimerización durante 20 segundos, a una distancia de 1 cm. El sistema adhesivo fue fotoactivado utilizando una lámpara de fotopolimerización (LED LUCE I Cristófoli, Campo Mourão, Paraná, Brasil)
6. Dientes son almacenados durante 12 horas en agua de la llave a 37°C en un horno de cultivo.

6.10 Restauración y corte de cuerpos de prueba de dentina

Sobre la superficie previamente tratada, se colocó 2 incrementos de 2 mm cada uno de resina compuesta (Opalis, FGM) utilizando una espátula de resina (American Eagle n°6). Cada incremento fue fotoactivado por 20 segundos a una distancia de 1 cm.

El diente restaurado se posicionó en su parte apical, al dispositivo de fijación para el corte, mediante compuesto de modelar en lápiz; a modo que la superficie restaurada quede de manera perpendicularmente al disco de corte.

Posteriormente, se seccionaron longitudinalmente en dirección mesio-distal vestíbulo-lingual a través de la interfaz de unión, utilizando un disco diamantado, bajo irrigación a 200 rpm montado en una máquina de corte (Sierra de precisión IsoMet 1000, Buehler). Se obtuvieron varillas con un área transversal de $0,9 \pm 0,2 \text{ mm}^2$.

6.11 Prueba de microtracción resina-dentina

Se midió el área transversal de cada varilla con un calibrador digital (Digital Vernier Caliper, Ubermann), fijando sus extremos con cianocrilato a un dispositivo jig tipo Geraldeli de microtracción; a modo que la interfase diente restauración quede al medio de este dispositivo. La muestra fue sometida a prueba microtensil (μ TBS) a través de una máquina de ensayo universal (Instron Eric 235s, Brasil) a una velocidad de 0,5 mm/min hasta el fallo. El cálculo se realizó dividiendo la carga al momento de la fractura en el área de cada varilla. La unidad de medida de los datos obtenidos fue expresada en MPa con los cuales se realizó el análisis estadístico.

El análisis se obtiene a partir de las fuerzas en kilogramos necesarias para romper los enlaces de la interfase y el área de la sección transversal de esta misma; expresado en megapascales (MPa) ⁽⁶⁰⁾.

$$\text{MPa} = \frac{\text{N}}{\text{mm}^2}$$

Además de medir los datos en MPa para su análisis estadístico, evaluamos el patrón de falla de los cuerpos de prueba a la microtracción de la siguiente manera:

- Falla cohesiva: La fractura es exclusivamente en dentina o resina.
- Falla adhesiva: La fractura es en la interfase resina/dentina.
- Falla mixta: La fractura es en la interfase resina/dentina incluyendo falla cohesiva del sustrato adyacente.

La clasificación se realizó bajo un microscopio estereoscópico a 60 X de aumento (Olympus SZ40, Tokio, Japón).

6.12 Grado de conversión de adhesivos experimentales

El test de grado de conversión de monómeros a polímeros de cada sistema adhesivo experimental fue realizado por medio del análisis de reflectancia por espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (ATR-FTIR, Nicolet iS5, Thermo fisher, EUA).

Para el test, cada sistema adhesivo fue dispensado sobre el cristal (6mm) de la mesa de ATR para realizar lectura del monómero (no polimerizado). Posterior a la lectura se fotopolimerizó el adhesivo en la misma posición (LED 1200 mW/cm²), para realizar una nueva lectura (polimerizado). Por cada sistema adhesivo se realizaron lecturas por triplicada con los parámetros: Apertura: 400 a 4000 cm⁻¹ y 64 co-adiciones.

Los espectros obtenidos se analizaron para obtener el área contenida bajo los peaks 1609 y 1639 cm⁻¹, correspondientes a los grupos alifáticos y aromáticos, respectivamente. Estos datos fueron aplicados en la fórmula:

$$DC (\%) = \left(1 - \frac{R (\text{polimerizado})}{R (\text{sin polimerizar})} \right) \times 100$$

7. RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados de la experimentación in vitro en dentina sin irradiación (identificada como "0 Gray") e irradiada (70 Gray), utilizando adhesivos con HEMA y HEMA-free.

7.1 Adhesivo con HEMA (Tabla IV)

Dentina a 0 Gy - Análisis Horizontal:

- Control y Cu II se comportaron de forma similar en cuanto a su resistencia de unión, no mostrando una diferencia significativa entre ellos ($p > 0,05$). Obtuvieron los valores más altos comparados con el resto de los adhesivos.
- Cu I, Cu I - Zn y Cu II - Zn obtuvieron una disminución significativa en su resistencia de unión ($p < 0,05$) respecto al control, pero con resultados similares entre sí.

Dentina a 70 Gy - Análisis Horizontal:

- Control, Cu I, Cu I + Zn y Cu II + Zn se comportaron de forma similar en cuanto a su resistencia de unión, por lo que no hubo diferencia significativa ($p > 0,05$).
- Cu II obtuvo una disminución significativa en su resistencia de unión ($p < 0,05$), siendo el resultado más bajo de todos estos grupos de adhesivos.

Comparación vertical entre adhesivo a 0 Gy y 70 Gy:

- Cu I y Cu I - Zn se mantuvieron estables en cuanto a su resistencia de unión posterior a la radiación, con resultados similares entre sí, sin tener un cambio significativo ($p > 0,05$).
 - Cu I mostró ser similar a su control, ambos posterior a la radiación obtuvieron una disminución en su resistencia de unión de manera equivalente. Ésta disminución en el valor es estadísticamente significativa ($p < 0,05$).
 - Cu II - Zn obtuvo un aumento en su resistencia de unión posterior a la radiación, por lo que existió un cambio significativo ($p < 0,05$).
-

Tabla IV. Resultados resistencia de unión (MPa \pm desviación estándar) de adhesivo control y experimentales con HEMA a 0 y 70 Gy

Dosis	Adhesivos				
	Control	Cu I	Cu II	Cu I -Zn	Cu II - Zn
0 Gy	27,91 \pm 7,3 Aa	20,37 \pm 8,2 Ba	25,58 \pm 9,2 Aa	21,12 \pm 7,9 Ba	18,44 \pm 5,6 Bb
70 Gy	21,66 \pm 6,5 Ab	22,50 \pm 8,4 Aa	17,77 \pm 6,1 Bb	20,84 \pm 6,4 Aa	21,29 \pm 7,3 Aa

Medias identificadas con letras mayúsculas similares indican igualdad estadística en sentido horizontal, y letras minúsculas en sentido vertical ($p > 0,05$).

7.2 Adhesivos HEMA free (Tabla V):

Dentina a 0 Gy – Análisis Horizontal

- Control y Cu I -Zn se mantuvieron estables en cuanto a su resistencia de unión, por lo que no existió un cambio estadísticamente significativo ($p > 0,05$), con resultados similares entre sí.
- Cu I, Cu II y Cu II -Zn obtuvieron una disminución en su resistencia de unión, por lo que existió un cambio estadísticamente significativo ($p < 0,05$), con resultados similares entre sí.

Dentina a 70 Gy – Análisis Horizontal:

- Cu II presenta la mayor resistencia de unión respecto a los otros grupos experimentales.
- Control y Cu II fueron los que mantuvieron más estable la resistencia de unión posterior a la radiación, por lo que no hubo diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$).
- Cu II - Zn fue el segundo adhesivo con resultados más cercanos al control, pero de igual manera su disminución en la resistencia de unión posterior a la radiación fue estadísticamente significativa ($p<0,05$) ya que presentó resultados similares a Cu I y Cu I - Zn.
- Cu I y Cu I - Zn fueron los que presentaron mayor disminución de la resistencia de unión posterior a la radiación, presentando cambios estadísticamente significativos ($p<0,05$), con resultados similares entre sí.

Comparación vertical entre adhesivo a 0 Gy y 70 Gy:

- Cu II fue el único adhesivo que posterior a la radiación aumentó su resistencia de unión, cambio que fue estadísticamente significativo ($p<0,05$).
- Control, Cu I, Cu I - Zn y Cu II - Zn II obtuvieron una disminución en su resistencia de unión posterior a la radiación, por lo que existió un cambio estadísticamente significativo ($p<0,05$), con resultados similares entre sí.

Tabla V. Resultados de resistencia de unión (MPa \pm desviación estándar) de adhesivo control y experimentales sin HEMA a 0 y 70 Gy

	Adhesivos				
Dosis	Control	Cu I	Cu II	Cu I + Zn	Cu II + Zn
0 Gy	24,17 \pm 8,1 Aa	18,45 \pm 6,6 Ba	16,92 \pm 8,3 Bb	25,67 \pm 8,2 Aa	18,41 \pm 7,8 Ba
70 Gy	17,75 \pm 4,9 ABb	14,92 \pm 7,4 Cb	19,46 \pm 6 Aa	14,97 \pm 8,2 Cb	15,5 \pm 5,4 BCb

Medias identificadas con letras mayúsculas similares indican igualdad estadística en sentido horizontal, y letras minúsculas en sentido vertical ($p > 0,05$).

7.3 Grado de conversión de los adhesivos (Gráfico I)

- Los resultados observados muestran un alto grado de conversión de todas las formulaciones de los adhesivos con HEMA. Los adhesivos experimentales mostraron un aumento en el grado de conversión, sin embargo esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$).
- Los adhesivos HEMA-free mostraron en general un desempeño significativamente menor a los anteriores. ($p < 0,05$).
- La formulación de Cu II - Zn (HEMA-free) mostró ser similar a su control, a diferencia de las otras formulaciones, no teniendo una diferencia estadísticamente significativa entre sí ($p > 0,05$).

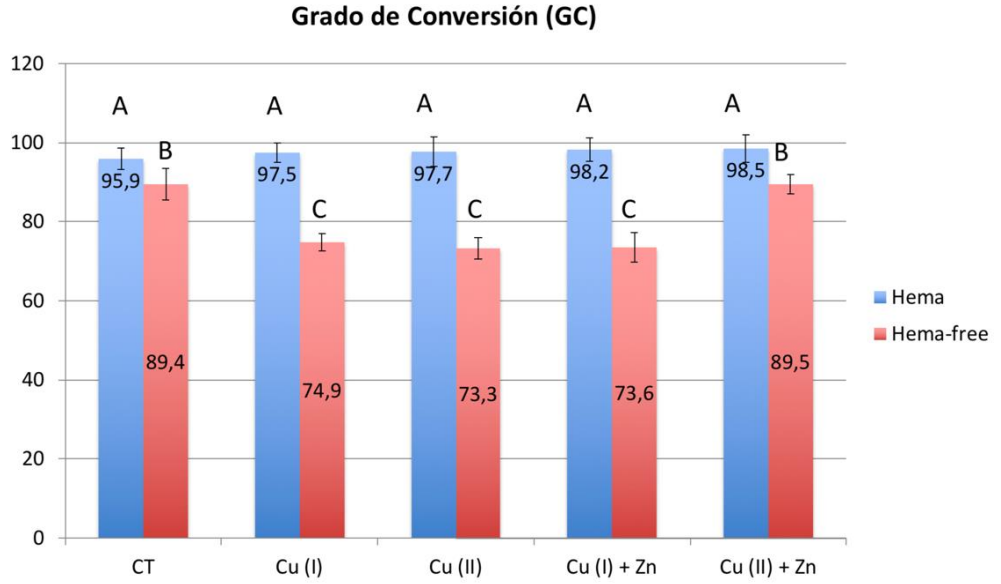


Gráfico I. Resultados grado de conversión (%) de los adhesivos experimentales Cu - Zn, con y sin HEMA

7.4 Patrones de Fractura (Tabla VI y VII)

Tabla VI. Patrones de fractura a 70 Gy.

Sistema adhesivo	Partículas agregadas	Patrón de fractura			
		A	C	M	PF
Prime and Bond 2.1	Control	31 (47,69%)	20 (30,7%)	3 (4,61%)	11 (16,9%)
	Cu I	44 (89,79%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (10,2%)
	Cu II	57 (80,28%)	11 (15,49%)	3 (4,22%)	0 (0%)
	Cu I + Zn	63 (95,45%)	2 (3,03%)	1 (1,51%)	0 (0%)
	Cu II + Zn	60 (95,23%)	3 (4,76%)	0 (0%)	0 (0%)
	Control	30 (39,47%)	3 (3,94%)	11 (14,47%)	32 (42,1%)
XP Bond	Cu I	5 (6,49%)	35 (45,45%)	9 (11,68%)	30 (38,96%)
	Cu II	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Cu I + Zn	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Cu II + Zn	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

A- Fractura adhesiva; C- Fractura cohesiva; M- Fractura mixta; PF - Pérdida prematura

Tabla VII. Patrones de fractura a 0 Gy.

Sistema adhesivo	Partículas agregadas	Patrón de fractura			
		A	C	M	PF
Prime and Bond 2.1	Control	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Cu I	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Cu II	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Cu I - Zn	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Cu II - Zn	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Control	49 (98%)	1 (2%)	0 (0%)	0 (0%)
XP Bond	Cu I	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Cu II	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Cu I - Zn	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Cu II - Zn	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Control	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

A- Fractura adhesiva; C- Fractura cohesiva; M- Fractura mixta; PF - Pérdida prematura

Al realizar el test de microtracción, se observó que la fractura adhesiva fue el patrón de fractura que obtuvo el mayor porcentaje, siendo este un 95%. Esto demuestra que el test de microtracción se realizó de forma correcta, ya que las tensiones aplicadas durante las pruebas se ubicaron a nivel de la interfase dentina-restauración.

8. DISCUSIÓN

El presente estudio demostró que la influencia de algunas nanopartículas (CuI, CuI-Zn, Cu II-Zn) adicionadas a adhesivos en base a HEMA y aplicados sobre dentina expuesta a una alta dosis radiación ionizante mantienen la resistencia de unión obtenida en una dentina sana. Esta modificación de los adhesivos HEMA es un hallazgo positivo para este tipo de sustratos, e innovador respecto al comportamiento de un sistema adhesivo. Considerando que los adhesivos HEMA free y HEMA con CuI, no tuvieron un comportamiento regular, se rechaza parcialmente la hipótesis nula.

En este estudio se aplicó una dosis única de radiación de 70 Gy, dosis menores a 70 Gy no generaría alteración de la estructura dentaria ni aumento en la susceptibilidad a caries según Lieshout, Kielbassa, Anneroth y cols ⁽⁶¹⁾⁽⁶²⁾⁽⁶³⁾⁽⁶⁴⁾, pero estas conclusiones son cuestionables debido a que criterios metodológicos como el manejo de muestras con más de 6 meses sin control de almacenamiento adicionan un sesgo a los resultados (datos del Proyecto FONDECYT Regular 1161435). Lo cual fue resguardado en el protocolo de este trabajo congelando los dientes a -20 Celsius lo cual adiciona un protocolo nuevo en este tipo de estudios.

La dosis usual de radioterapia que se utiliza para pacientes oncológicos es de 65 a 72 Gy de forma fraccionada, aplicándose por sesión diaria 1,8 a 2 Gy por 5 días a la semana por un periodo de 7 semanas ⁽²⁸⁾. Este fraccionamiento es realizado para permitir la recuperación de las células normales y la muerte de las tumorales que poseen menor capacidad de recuperación frente a la radiación. Así son calculadas las dosis según el tipo de cáncer, aplicar una dosis única de 70 Gy sería altamente agresivo. Sin embargo, considerando que este es un estudio in vitro de dientes extraídos que no involucra al paciente, fue aplicada la dosis única de radiación.

Así, Pioch y cols., aplicaron una dosis única de 70 Gy al igual que este estudio, pesquizando luego de esta aplicación que se genera una reducción de la estabilidad de la unión amelodentinaria y daño de los tejidos orgánicos dentarios post radiación ⁽⁶⁵⁾, siendo este daño cuantificable según Jansma y cols., ⁽⁶⁶⁾ y Joyston-Bechal y cols ⁽⁶⁷⁾.

La presencia de la resina hidrofílica HEMA en el sistema adhesivo de etch-and-rinse, promueve una mejor capacidad de infiltración del material en dentina desmineralizada ⁽⁶⁸⁾. Esto podría explicar que los mejores comportamientos de nuestro estudio, a 0 y 70 Gy, se encuentran en el grupo de adhesivos experimentales con presencia de HEMA.

Dentro de la literatura se encuentra que adhesivos con 15% de HEMA poseen mejores propiedades que adhesivos con 30% de HEMA en cuanto a grado de conversión, menor sorción, menor solubilidad y mayor resistencia cohesiva ⁽⁶⁹⁾.

Estudios plantean que el exceso de HEMA podría causar algún tipo de perjuicio, ya que se ha encontrado una baja resistencia de unión para el adhesivo que contiene mayor porcentaje de este componente, pudiendo ser explicado debido a un gran contenido de este monómero, disminuye el grado de conversión ⁽⁶⁹⁾ y a la generación de un gel acuoso e inestable, lo que haría al sistema adhesivo más susceptible a la degradación hidrolítica ⁽⁷⁰⁾. Sin embargo, la resistencia de unión del presente estudio, avala el uso de sistemas adhesivos con HEMA sobre dentina irradiada independiente de la presencia o no de las nanopartículas experimentales, generando un nuevo hallazgo.

En términos generales los adhesivos experimentales presentaron una disminución de la resistencia de unión a 0 Gy, que si bien no fue significativa en todos los casos, podría deberse a que para añadir a su formulación las nanopartículas de Cu y Zn estas deben ser disueltas en un solvente para posteriormente ser agregado al adhesivo ⁽⁷¹⁾. Esto aumentaría las probabilidades de afectar el proceso de polimerización, ya que sería más probable que quedara un porcentaje de él sin evaporar ⁽⁷²⁾. Sin embargo, el grado conversión de polimerización de los sistemas adhesivos HEMA (tanto el control y experimentales) no se vieron alterados a diferencia de los sin HEMA (con excepción de Cu-Zn). Así estos antecedentes permiten rechazar parcialmente la hipótesis nula asociada a grado de conversión.

En los estudios de Felizardo y cols. ⁽⁷³⁾, hace referencia al uso de diferentes tipos de solventes, mencionando que al usar acetona, esta posee un gran potencial de vaporización pero a su vez un alto grado de deshidratación de la dentina. Por lo que concluyen que la mejor condición se pudiera dar al combinar acetona y etanol, equilibrando la evaporación del solvente sin deshidratar la dentina, lo que contribuye a generar una matriz más estable. Esto podría explicar los mejores resultados que obtuvo en este estudio el adhesivo experimental con HEMA, que contenía etanol y acetona, a diferencia del adhesivo experimental libre de HEMA, que contenía solo acetona. Considerando lo anterior, puede ser recomendable que la aplicación de estos adhesivos experimentales sea realizada con estrategias para disminuir la cantidad de solvente, por ejemplo, la aplicación activa, duplicar el tiempo de evaporación y polimerización ⁽⁷⁴⁾⁽⁷⁵⁾.

Al enfocarnos en el sustrato al que será aplicado la restauración, nuestros resultados no concordarían con el estudio de Galetti y cols., en donde se postula que no habrían cambios en la resistencia de unión a dentina irradiada así como también que la radiación no perjudica la interfaz de unión entre la dentina y materiales adhesivos ⁽⁷⁶⁾. Sin embargo, Galetti y cols., usaron un muestras pequeña, provenientes de solo cinco pacientes irradiados lo cual no permite estandarizar las características de los especímenes, siendo una limitación importante de ese trabajo. Además, reportan haber seguido el método de almacenamiento de dientes de Silva y cols. (2009 y 2010), quienes utilizaron una solución de formalina al 10% neutralizada, lo cual modifica el tejido ya que produce enlaces cruzados entre la fibrillas colágenas irradiadas, alterando las propiedades mecánicas del sustrato siendo un importante problema para realizar pruebas de resistencia de unión confiables. Cabe destacar que todos los

adhesivos utilizados por estos autores contenían HEMA, sin embargo, el presente estudio lo comparo con Libres de HEMA, pudiendo determinar la recomendación de los primeros en caso de tejidos irradiados. Los resultados experimentales obtenidos por Dibo da Cruz y cols.,⁽⁷⁷⁾ y da Cunha y cols.,⁽⁷⁸⁾ también indican que no hay mayor porcentaje de fracaso en restauraciones de resina en dientes que han sido expuestos a radiación. Sin embargo, Dibo y col., restauraron antes de irradiar, lo cual no es comparable a este trabajo, pero es importante destacarlo ya que demostraron un efecto protector de las fibrillas colágenas previamente hibridizadas. Por otro lado, Cunha y cols. no describen el método de almacenamiento, siendo probable que provengan de un Bancos de dientes donde el protocolo general utiliza agua destilada y refrigeración a -4 grados pero no resguarda el tiempo desde su extracción. Estos últimos aspectos marcan una diferencia metodológica importante con este estudio pudiendo influir en la diferencias con nuestros resultados. El congelamiento a -20 grados Celsius cercano a la exodoncia utilizado en este estudio, permite la mantención estable de la matriz proteica de la dentina la cual es fundamental para la hibridización.

Wöstmann y cols.⁽⁷⁹⁾, plantean que las restauraciones de resina compuesta presentan una menor duración en pacientes sometidos a radiación versus los que no han sido irradiados. Por otro lado, Yadav y cols., postulan que dientes irradiados presentan una disminución en la resistencia de unión adhesiva a la microtracción de sus restauraciones⁽⁸⁰⁾. Lo anterior podría explicarse a partir de lo planteado por Bernard y cols., quienes plantean que los efectos de la radiación en el sustrato dental podrían comprometer la capacidad de unión con los materiales dentales, al afectar las fibrillas colágenas y con ello la formación de la capa híbrida⁽⁸¹⁾.

Si bien los adhesivos experimentales disminuyen su resistencia de unión respecto a su control 0 Gy, al ser aplicados sobre dentina irradiada a 70 Gy, los adhesivos con HEMA experimentales no se vieron afectados, (con excepción de HEMA-Cu II), . Esta estabilidad de la resistencia de unión puede explicarse a partir de que independiente de las alteraciones que se producen a nivel de las fibrillas colágenas, lo cual desfavorece una correcta formación de la capa híbrida, los efectos de las nanopartículas de Cu I, Cu I - Zn y Cu II - Zn, estabilizan la conformación de la interface adhesiva por diferentes factores que serán descritos más adelante.

Los datos obtenidos por Bernard y cols.⁽⁸¹⁾ y Naves y cols.,⁽³⁴⁾ indican que el mayor porcentaje de fallas al momento de realizar una restauración en un diente que ha sido irradiado son a causa de una falla adhesiva, mismo tipo de falla que se presentaron en mayor proporción durante esta experimentación, lo que a su vez se condice con el postulado de que las fallas que se producen son principalmente en relación a la adhesión producto de los cambios en las estructuras dentarias a causa de la radiación.

Durante la fase experimental fue realizada la aplicación de los adhesivos posterior a la radiación, la revisión sistemática realizada por Madrid Troconis y cols., plantea que los sistemas adhesivos no son afectados en cuanto a su resistencia de unión si es que la aplicación de la radioterapia fue posterior a la restauración. En cambio, al aplicarse primero la radiación ionizante y posteriormente realizar la restauración si existe una disminución de la resistencia de unión. Podemos a partir de esto pensar que la capa híbrida existente previa a la radiación no será afectada por este proceso, como sí será afectada una capa híbrida generada posterior a la radioterapia ⁽²⁶⁾, es por esto que los resultados de este estudio son relevantes. Plantea que los adhesivos experimentales son equivalentes, e incluso en ciertos casos mejores que los convencionales, estableciendo una estrategia de unión adhesiva estable sobre dentina irradiada pese a los cambios que la radiación produce sobre el tejido. Aún así, menciona que es necesario recabar información más concluyente.

La industria se ha encargado de desarrollar materiales dentales con propiedades antibacterianas, para reducir la colonización de la biopelícula que se forma sin comprometer sus propiedades mecánicas, así como también la biomodulación de las MMPs, razón por la cual se buscó innovar incorporando nanopartículas de Cu y Zn a los sistemas adhesivos experimentales.

Dentro de los agentes más prometedores, se encuentran las nanopartículas de Cu. En 2010 Shawky y cols., estudiaron el efecto de los metales como aditivos en la conductividad térmica de la resina, demostrando relación directa con respecto al porcentaje en peso de Cu, es decir, a mayor peso de partícula Cu, mayor conductividad térmica proporcionada ⁽⁸²⁾.

Este aumento de la conductividad térmica permite que la energía calórica durante la polimerización se disperse de forma más homogénea y en consecuencia tengamos un aumento en el grado de conversión de monómeros a polímeros ⁽⁸³⁾, por lo tanto, al existir mayor energía calórica existe una mayor movilidad de monómeros y radicales, generando una disminución en la viscosidad del sistema adhesivo y por ende, trae como resultado un mayor grado de polimerización ⁽⁸⁴⁾. Lo que coincide con nuestros resultados de mayores grados de conversión en los adhesivos con nanopartículas metálicas. La anterior evidencia coincide con los dichos de AlShaafi, donde postula que hay un mayor grado de conversión y dureza medida en la escala Knoop en resinas con una mayor temperatura durante su polimerización ⁽⁸⁵⁾.

Se debe considerar que los materiales poliméricos presentan una restricción en la transferencia de calor debido a la existencia de una interfaz, por lo tanto la onda térmica pierde parte de su energía en esta transición ⁽⁸⁶⁾. Pero considerando los resultados de este estudio y la evidencia postulada anteriormente, podríamos pensar que la inclusión de moléculas de Cu generaría un favorecimiento en la conversión de monómeros a polímeros al aportar su característica de conductividad térmica.

Además de presentar propiedades que aportan a un mejor grado de conversión gracias a su conductividad térmica, el cobre es altamente conocido y valorado por ser tener un buen poder antibacteriano. El cobre induce una degradación del ADN plasmídico de bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas de forma dosis-dependiente. Esta propiedad sería favorable para mantener un adecuado control de las bacterias que podrían encontrarse y/o reproducirse a nivel de la interfase diente-restauración, aumentando la estabilidad de la misma y prolongar la vida tanto del diente y la restauración⁽⁸⁷⁾.

Las metaloproteinasas (MMPs) son proteasas dependientes de zinc, cuya función es modular la remodelación de los componentes proteicos de la matriz extracelular de todos los tejidos. A nivel nivel de la capa híbrida, las MMPs 2, 8, 9 y 20 contribuyen en la degradación de las fibrillas colágenas de la interfase dentina-resina⁽⁸⁸⁾. Las MMPs degradan las fibrillas colágenas de la capa híbrida, disminuyendo la longevidad de las restauraciones, debido a la degradación de su interfase. Se han estudiado diferentes agentes inhibidores de la actividad de las MMPs⁽⁸⁹⁾. El Zn es un cofactor de las metaloproteinasas de la matriz y es vital para regular su actividad y su expresión⁽⁹⁰⁾.

Nosrati y cols., concluyeron que el Zn genera un efecto inhibitorio en la producción y actividad de las MMPs, el cual es dependiente de la dosis de Zn utilizada y de la duración del tratamiento. Por lo que una alteración en la concentración de Zn podría afectar la expresión, la actividad y los impactos destructivos de las MMP⁽⁹¹⁾.

El estudio de Osorio y cols., demostró que una alta concentración de Zn reduce fuertemente la degradación del colágeno. El Zn puede considerarse como un inhibidor competitivo de las MMPs, ejerciendo un efecto protector a través de la unión a los sitios colágenos sensibles a metaloproteinasas⁽⁹²⁾.

La incorporación de nanopartículas de Zn en los adhesivos experimentales podrían generar a largo plazo una modulación de estas enzimas y junto con ello la estabilización de la interfase adhesiva; lo cual debe ser comprobado con las pruebas de resistencia de unión de microtracción a 12 meses de la utilización de este sistema adhesivo en el presente estudio.

Las pruebas a 12 meses además de comprobar la acción moduladora de las nanopartículas de Cu y Zn, nos ayudarán a determinar si la adición de las nanopartículas metálicas y las respectivas formulaciones de adhesivos son estables en el tiempo manteniendo una capa híbrida lo más íntegra posible.

9. CONCLUSIONES

La irradiación de la dentina perjudica la resistencia de unión de los adhesivos HEMA control y en general de los libres de HEMA.

En dientes irradiados a 70 Gy, la incorporación de Cu I, Cu I-Zn y Cu II-Zn permiten mantener estable la resistencia de unión de los adhesivos experimentales con HEMA, a diferencia de Cu II, que empeora sus resultados. Para fines de este estudio, sería viable seguir trabajando con estas formulaciones.

El grado de polimerización de los adhesivos experimentales en base a HEMA, no se ven afectados por la incorporación de nanopartículas

En términos generales, los adhesivos sin HEMA dieron peores resultados, por lo que para fines de este estudio, sería de más provecho seguir trabajando con formulaciones en presencia de HEMA.

Se rechaza la hipótesis nula, aceptándose parcialmente la alternativa, debido a que sólo 3 adhesivos experimentales se comportan similar al adhesivo convencional en cuanto a resistencia de unión y 5 de ellos son similares en cuanto a grado de conversión de polimerización

Se espera que, al cabo de 12 meses, los adhesivos experimentales XP presenten una mayor estabilización mecánica y antimicrobiana de la interfase diente-restauración gracias a la actividad antibacteriana y conductora del cobre y a la modulación de las MMPs por parte del zinc, las cuales deben ser comprobadas con test de microtracción y de nanoinfiltración.

10. LIMITACIONES Y SUGERENCIAS

El presente estudio no controló la edad de las personas donadoras, por lo que se sugiere a futuro utilizar muestras que sean del mismo rango etario para responder si esto puede o no influir en los resultados.

Este estudio presenta las limitaciones propias de una investigación in vitro donde son estandarizadas y controladas todas las variables, dando validez interna y limitando su validez externa respecto de la situación oral restauradora en los pacientes.

11. CONFLICTOS DE INTERESES

Este estudio no presenta convenios ni asociación a marcas de forma particular. No se presentan conflictos de intereses.

Este trabajo fue financiado por el proyecto FONDECYT Regular N°1161435: “Estudio del impacto en los tejidos dentales duros y evaluación in vitro de nuevas estrategias restauradoras para la rehabilitación de pacientes irradiados por cáncer de cabeza y cuello”.

12. RESUMEN

Título: Efectos en las propiedades adhesivas a dentina irradiada de sistemas adhesivos modificados con Cu y Zn.

Introducción: El cáncer es una de las enfermedades más prevalentes en el mundo. El cáncer de cabeza y cuello corresponde al 3%, siendo su tratamiento de elección la radioterapia. Dentro de los efectos secundarios de este tratamiento tenemos la caries de radiación, la cual es de rápido progreso. Debido a esto, surge la necesidad de desarrollar biomateriales con propiedades bioactivas y mecánicas que fortalezcan la interfase diente restauración en dientes sometidos a radiación ionizante; por lo que se propone en este estudio agregar nanopartículas de Cu y Zn para estabilizar la interfase.

Objetivos: Evaluar resistencia de unión (MPa) y grado de conversión de polimerización de adhesivos experimentales Cu - Zn v/s adhesivos convencionales en dentina irradiada in vitro.

Materiales y métodos: 100 terceros molares sanos fueron distribuidos en 20 grupos ($n = 5$) de acuerdo a las siguientes variables 1) dosis de radiación, 0 Gy (Control), 70 Gy; sistema adhesivo, Libre de HEMA (PB) y HEMA, (XP); tipo de nanopartícula, Cu I, Cu I-Zn, Cu II, Cu II-Zn. Los adhesivos fueron aplicados bajo la técnica adhesiva de etch-and-rinse según las instrucciones del fabricante. Las probetas fueron evaluadas bajo tensiones de tracción hasta la fractura. Los datos fueron analizados con two-way ANOVA y test de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Resultados: Algunos adhesivos experimentales con HEMA obtuvieron mejores resultados de resistencia mecánica y grado de conversión de polimerización respecto a los HEMA-free.

Conclusiones: La adición de nanopartículas metálicas a los adhesivos podría sugerir un comportamiento estabilizante de la interfase adhesiva cuando la dentina ha sido sometida a radiación, además de generar una mayor conversión monómero a polímero.

13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R, Torre L, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018; 68(6):394-424.
- (2) Medina E, Kaempffer AM. Mortalidad por cáncer en Chile: consideraciones epidemiológicas. *Rev méd. Chile.* 2001; 129(10): 1195-1202
- (3) Rosales A, Esteves S, Jorge J, Almeida O, Lopes M. Dental needs in Brazilian patients subjected to head and neck radiotherapy. *Braz Dent J.* 2009; 20(1):74–7
- (4) Bhide S, Newbold K, Harrington K, Nutting C. Clinical evaluation of intensity-modulated radiotherapy for head and neck cancers. *Br J Radiol.* 2012; 85(1013):487–494
- (5) González W, Santos A, Carvalho M, de Andrade R, Lopes M. Criterios de Evaluación Odontológica Pre-Radioterapia y Necesidad de Tratamiento de las Enfermedades Orales Post-Radioterapia en Cabeza y Cuello. *Int. J. Odontostomat.* 2010 Dic; 4(3): 255-266.
- (6) Kielbassa AM, Hinkelbein W, Hellwig E, Meyer-Lückel H. Radiation-related damage to dentition. *Lancet Oncol.* 2006 Apr;7(4):326-35. Review.
- (7) Gupta N, Pal M, Rawat S, Grewal M, Garg H, Chauhan D. Radiation-induced dental caries, prevention and treatment - A systematic review. *Natl J Maxillofac Surg.* 2015; Jul-Dec; 6(2): 160–166.
- (8) Argueta L, Morales R, Scougall R, Olea O. Synthesis, characterization and antibacterial activity of copper, nickel and bimetallic Cu–Ni nanoparticles for potential use in dental materials. *Progress In Natural Science: Materials International.* 2014; 24(4), 321-328.
- (9) Díaz A, Méndez D, Martínez E, Orozco J, Velásquez M. Metaloproteinasas de la matriz en Odontología y sus consideraciones desde el campo de la química computacional. *Rev Cub Estomatol.* 2014; Mar; 51(1): 80-92.
- (10) Gómez de Ferraris, M. and Campos Muñoz, A. (2009). *Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental.* 2nd ed. México: Medica Panamericana.
- (11) Goldberg M. Dentin structure composition and mineralization. *Frontiers in Bioscience.* 2011;E3(2):711-735.
- (12) Van Landuyt K, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials.* 2007; 28(26), 3757–3785.
- (13) Phillips (2004). *Ciencia de los materiales dentales.* 11 ed. Madrid: Elsevier: 381-398.

- (14) Mithiborwala S, Chaugule V, Munshi AK, Patil V. A comparison of the resin tag penetration of the total etch and the self-etch dentin bonding systems in the primary teeth: An in vitro study. *Contemp Clin Dent*. 2012; 3(2):158-163.
- (15) Grégoire G, Guignes P, Nasr K. Effects of dentine moisture on the permeability of total-etch and one-step self-etch adhesives. *J. Dent*. 2009; 37(9): 691-699.
- (16) Pegado RE, do Amaral FL, Flório FM, Basting R. Effect of Different Bonding Strategies on Adhesion to Deep and Superficial Permanent Dentin. *Eur. J Dent*. 2010; 4(2): 110–117.
- (17) Dourado, A. (2006). Sistemas Adhesivos: revisión de literatura. *RODYB - Revista De Operatoria Dental Y Biomateriales*, 1(2), 13-28.
- (18) Hervás A, Martínez M, Cabanes J, Barjau A, Fos P. Resinas compuestas: Revisión de los materiales e indicaciones clínicas. *Med. oral patol. oral cir.bucal*. 2006; Abr 11 (2): 215-220.
- (19) Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. *J Dent Res*. 1994;73(6): 1212–20
- (20) Tay FR, Pashley DH. Have dentin adhesives become too hydrophilic?. *J Can Dent Assoc*. 2003;69(11):726–31.
- (21) O. Steenbecker, W. Garone, C. Da Souza, J. Uribe, N. Núñez EP. Principios Y Bases de Los Biomateriales En Operatoria Dental Estética Adhesiva. Editorial U. de Valparaíso , ed 2006.
- (22) Kenneth J. Anusavice, PhD D. Phillips Ciencia de Los Materiales Dentales. 11°. ELSEVIER, ed.; 2004.
- (23) Swift E, Perdigao J, Heymann H. Bonding to enamel and dentine: a brief history and state of art. *Quint Int*. 1995; 26(2): 95-110.
- (24) Troconis C, Santos AR, Brandão T, Lopes M, de Goes M. Impact of head and neck radiotherapy on the mechanical behavior of composite resins and adhesive systems: A systematic review. *Dent Mater*. 2017; Nov;33(11):1229-1243.
- (25) Yoon KY, Hoon J, Park JH, Hwang J. Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. *Sci total environ*. 2007;373(2-3):572-5.
- (26) Perdigão J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater*. 2010; Feb;26(2):e24-37.
- (27) Pereira T, Cenci MS, Fedorowicz Z, Azevedo M. Antibacterial agents in composite restorations for the prevention of dental caries. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; Dec 17;(12):CD007819.

- (28) Jham BC, da Silva A. Oral complications of radiotherapy in the head and neck. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2006; Sep-Oct;72(5):704-8.
- (29) Springer I, Niehoff P, Warnke PH, Böcek G, Kovács G, Suhr M. Radiation caries—radiogenic destruction of dental collagen. *Oral Oncology*. 2005, 41(7), 723–728.
- (30) Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Strafford S, Wood SR, Kirkham J. The chemistry of enamel caries. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000;11(4):481–95.
- (31) Arid J, Palma-Dibb RG, de Oliveira HF, Nelson-Filho P, de Carvalho FK, da Silva LAB, de Siqueira Mellara T, da Silva RAB, Faraoni JJ, de Queiroz AM. Radiotherapy impairs adhesive bonding in permanent teeth. *Support Care Cancer*. 2019 Apr 24. doi: 10.1007/s00520-019-04782-5.
- (32) Naves L, Novais V, Armstrong S, Correr L, Soares C. Effect of gamma radiation on bonding to human enamel and dentin. *Support Care Cancer*. 2012, 20(11), 2873–2878.
- (33) Gomes W, Prado A, Brandao TB, Morais K, de Castro J, Mak MP. Postradiation Matrix Metalloproteinase-20 Expression and Its Impact on Dental Micromorphology and Radiation-Related Caries. *Caries Res*. 2017;51(3):216-224.
- (34) Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FK, Jansma J, Coppes RP. Prevention and treatment of the consequences of head and neck radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003;14(3):213-25.
- (35) Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FK, Jansma J, Coppes RP. Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003; 14(3), 199–212.
- (36) Deng J, Jackson L, Epstein J, Migliorati C, Murphy B. Dental demineralization and caries in patients with head and neck cancer. *Oral Oncology*. 2015, 51(9), 824–831.
- (37) Epstein JB, Scully C. The role of saliva in oral health and the causes and effects of xerostomia. *J Can Dent Assoc*. 1992;58(3):217–21.
- (38) Franzen L, Funegard U, Ericson T, Henriksson R. Parotid gland function during and following radiotherapy of malignancies in the head and neck. A consecutive study of salivary flow and patient discomfort. *Eur J Cancer*. 1992;28(2–3):457–62).
- (39) Someya M, Sakata K, Nagakura H, Nakata K, Oouchi A, Hareyama M. The Changes in Irradiated Salivary Gland Function of Patients with Head and Neck Tumors Treated with Radiotherapy. *Jpn J Clin Oncol*. 2003;33(7)336–340.

- (40) Cassolato SF, Turnbull RS. Xerostomia: clinical aspects and treatment. *Gerodontology*. 2003;20(2):64–77.
- (41) Aguiar GP, Jham BC, Magalhães CS, Sensi LG, Freire AR. A review of the biological and clinical aspects of radiation caries. *J Contemp Dent Pract*. 2009 Jul 1;10(4):83-9. Review.
- (42) Jadhav S, Gaikwad M, Nimse A, Rajbhoj A .Copper Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Their Antibacterial Activity. *J Cluster Sci* . 2011; 22,2;121-129.
- (43) Hidalgo R. Las metaloproteinasas y el progreso de la lesión cariosa en dentina. *Rev Estomatol Herediana*. 2006;16(1):64-72.
- (44) Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, Engler JA. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1993;4(2):197-250. Review.
- (45) Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S. The Role of Matrix Metalloproteinases (MMPs) in Human Caries. *JDR* 2006;85(1):22-32.
- (46) Birkedal-Hansen H. Proteolytic remodeling of extracellular matrix. *Current Opinion in Cell Biology*. 1995;7(5):728-735.
- (47) Vuotila T, Ylikontiola L, Sorsa T, Luoto H, Hanemaaijer R, Salo T et al. The relationship between MMPs and pH in whole saliva of radiated head and neck cancer patients. *J Oral Pathol Med*. 2002;31(6):329-338.
- (48) Agrawal A, Romero-Perez D, Jacobsen J, Villarreal F, Cohen S. Zinc-Binding Groups Modulate Selective Inhibition of MMPs. *ChemMedChem*. 2008;3(5):812-820.
- (49) Osorio R, Yamauti M, Osorio E, Román J, Toledano M. Zinc-doped dentin adhesive for collagen protection at the hybrid layer. *Eur J Oral Sci*. 2011;119(5):401-410.
- (50) Abed Y, Sabry H, Alrobeigy N. Degree of conversion and surface hardness of bulk-fill composite versus incremental-fill composite. *Tanta Dent J*. 2015; 12(2): 71-80.
- (51) Goncalves L, Maluf L, Sanches R, Araujo E. Fourier Transform Infra-red Spectroscopy (FT-IR) is one of the most widely used techniques for measurement of DC in dental composites. *J Appl Oral Sci*. 2008; 16(2):145-9.
- (52) Rastelli A, Jacomassi D, Bagnato V. Degree of conversion and temperature increase of a composite resin light cured with an argon laser and blue LED. *Laser Physics*. 2008;18(12):1570-1575.

- (53) Moraes LG, Rocha RS, Menegazzo LM, de Araújo EB, Yukimito K, Moraes JC. Infrared spectroscopy: a tool for determination of the degree of conversion in dental composites. *J Appl Oral Sci.* 2008; 16(2): 145–149.
- (54) Costa S, Galvão M, Jacomassi D, Bernardi M, Hernandez A, de Souza Rastelli A et al. Continuous and gradual photo-activation methods: influence on degree of conversion and crosslink density of composite resins. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.* 2010;103(1):219-227.
- (55) Stahl F, Ashworth SH, Jandt KD, Mills RW. Light-emitting diode (LED) polymerisation of dental composites: flexural properties and polymerisation potential. *Biomaterials.* 2000; 21(13):1379-85.
- (56) Ak AT, Alpoz AR, Bayraktar O, Ertugrul F. Monomer Release from Resin Based Dental Materials Cured With LED and Halogen Lights. *Eur J Dent.* 2010; 4(1):34-40.
- (57) Price RB, Dérand T, Loney RW, Andreou P. Effect of light source and specimen thickness on the surface hardness of resin composite. *Am J Dent.* 2002; 15(1):47-53.
- (58) McCabe JF, Carrick TE. Output from visible-light activation units and depth of cure of light-activated composites. *J Dent Res.* 1989; 68(11):1534-9.
- (59) Leonard DL, Charlton DG, Roberts HW, Cohen ME. Polymerization efficiency of LED curing lights. *J Esthet Restor Dent.* 2002; 14(5):286-95.
- (60) Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength — Evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater.* 1994;10(4):236-240.
- (61) Lieshout H, Bots C. The effect of radiotherapy on dental hard tissue—a systematic review. *Clin Oral Investig.* 2013;18(1):17-24.
- (62) Kielbassa AM, Wrbas KT, Schulte-Mönting J, Hellwig E. Correlation of transversal microradiography and microhardness on in situ-induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. *Arch Oral Biol.* 1999 Mar;44(3):243-51.
- (63) Kielbassa AM. In situ induced demineralization in irradiated and non-irradiated human dentin. *Eur J Oral Sci.* 2000 Jun;108(3):214-21.
- (64) Anneroth G, Holm LE, Karlsson G. The effect of radiation on teeth. A clinical, histologic and microradiographic study. *Int J Oral Surg.* 1985 Jun;14(3):269-74.
- (65) Pioch T, Golfels D, Staehle HJ. An experimental study of the stability of irradiated teeth in the region of the dentinoenamel junction. *Endod Dent Traumatol.* 1992 Dec;8(6):241-4.

- (66) Jansma J, Vissink A, Jongebloed W, Retief H, 's Gravenmade EJ. Natural and induced radiation caries: a SEM study. *Am J Dent.* 1993; 6(3):130–136.
- (67) Joyston-Bechal S. The effect of X-radiation on the susceptibility of enamel to an artificial caries-like attack in vitro. *J Dent.* 1985 Mar;13(1):41-4.
- (68) Van Landuyt KL, De Munck J, Snauwaert J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y, Inoue S, Peumans M, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Monomer-solvent phase separation in one-step self-etch adhesives. *J Dent Res.* 2005 Feb;84(2):183-8.
- (69) Collares FM, Ogliairi FA, Zanchi CH, Petzhold CL, Piva E, Samuel SM. Influence of 2-hydroxyethyl methacrylate concentration on polymer network of adhesive resin. *J Adhes Dent.* 2011 Apr;13(2):125-9.
- (70) Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Hashimoto M, Peumans M, Lambrechts P, Yoshida Y, Inoue S, Suzuki K. Technique-sensitivity of contemporary adhesives. *Dent Mater J.* 2005 Mar;24(1):1-13.
- (71) Urrejola M, Soto L, Zumarán C, Peñaloza J, Álvarez B, Fuentesvilla I, Haidar Z. Sistemas de Nanopartículas Poliméricas II: estructura, métodos de elaboración, características, propiedades, biofuncionalización y tecnologías de auto-ensamblaje capa por capa (layer-by-layer self-assembly). *Int. J. Morphol.* 2018; 36(4):1463-1471.
- (72) Nunes TG, Garcia FC, Osorio R, Carvalho R, Toledano M. Polymerization efficacy of simplified adhesive systems studied by NMR and MRI techniques. *Dent Mater.* 2006 Oct;22(10):963-72.
- (73) Felizardo KR, Lemos LV, de Carvalho RV, Gonini Junior A, Lopes MB, Moura SK. Bond strength of HEMA-containing versus HEMA-free self-etch adhesive systems to dentin. *Braz Dent J.* 2011;22(6):468-72.
- (74) Luque-Martinez IV, Perdigão J, Muñoz MA, Sezinando A, Reis A, Loguercio AD. Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. *Dent Mater.* 2014 Oct;30(10):1126-35.
- (75) M.A. Muñoz, I. Luque-Martinez, V. Hass, M.F. Gutierrez, A. Reis, A.D. Loguercio. The sonic application of universal adhesives in self-etch mode improves their performance on enamel. *International Journal of Adhesion and Adhesives* 88 (2019) 43–49).
- (76) Galetti R, Santos AR, Antunes A, Alves F Lopes M, de Goes M. Radiotherapy does not impair dentin adhesive properties in head and neck cancer patients. *Clin Oral Investig.* 2014 Sep;18(7):1771-8.
- (77) Cruz A, Gonçalves L, Rastelli A, Correr-Sobrinho L, Bagnato V, Boscolo F. Bond Strength of Dental Adhesive Systems Irradiated with Ionizing Radiation. *The journal of adhesive dentistry.* 2019;12(123):8.

- (78) da Cunha S, Ramos PA, Haddad CM, da Silva J, Fregnani ER. Effects of Different Radiation Doses on the Bond Strengths of Two Different Adhesive Systems to Enamel and Dentin. *The journal of adhesive dentistry. J Adhes Dent.* 2016;18(2):151-6.
- (79) Wöstmann B, Rasche KR. The influence of radiotherapy on survival time of teeth and restorations. A study on patients with maxillofacial defects. *Zahnärztliche Welt.* 1995; 104:627–627.
- (80) Yadav S, Yadav H. Ionizing irradiation affects the microtensile resin dentin bond strength under simulated clinical conditions. *J Conserv Dent.* 2013; 16(2), 148–151.
- (81) Bernard C, Villat C, Abouelleil H, Gustin MP, Grosogeat B. Tensile Bond Strengths of Two Adhesives on Irradiated and Nonirradiated Human Dentin. *Biomed Res Int.* 2015;2015:798972.
- (82) Shawky A, Harith J, AL-Ajaj E. The Effect of metals as Additives on Thermal. *Iraq J Phys.* 2010;8(12) 74 -79.
- (83) Sehajpal S, Sood V. Effect of metal fillers on some physical properties of acrylic resin. *J Prosth Dent.* 1989;61(6):746-751.
- (84) Calheiros FC, et al. Effect of temperature on composite polymerization stress and degree of conversion. *Dent Mater.* 2014; Jun;30(6):613-8.
- (85) AlShaafi M. Factors affecting polymerization of resin-based composites: A literature review. *Saudi Dent J.* 2017 Apr;29(2):48-58.
- (86) Jasim K, Fadhil R. The Effects of Copper Additives on the Thermal Conductivity of Epoxy Resin. *Inter J Sci Res.* 2015; 2319-7064.
- (87) Vincent M, Duval R, Hartemann P, Engels-Deutsch M. Contact killing and antimicrobial properties of copper. *Journal of Applied Microbiology.* 2018;124(5):1032-1046.
- (88) Carrilho MR, Tay FR, Donnelly AM, Agee KA, Tjaderhane L, Mazzoni A, et al. Host-derived loss of dentin matrix stiffness associated with solubilization of collagen. *J Biomed Mater Res Part B Applied Biomater.* 2009;90:373–80.
- (89) Perdigão J, Reis A, Loguercio A. Dentin Adhesion and MMPs: A Comprehensive Review. *J Esthet Rest Dent.* 2013; 25(4), 219–241.
- (90) Seltzer J, Jeffrey J, Eisen A. Evidence for mammalian collagenases as zinc ion metalloenzymes. *Biochim Biophys Act - Enzymolog.* 1977; 485(1), 179–187.

(91) Nosrati R, Kheirouri S, Ghodsi R. The effects of zinc treatment on matrix metalloproteinases: a systematic review. *J Trace Elem Med Biol.* 2019 Dec;56:107-115.

(92) Osorio R, Yamauti M, Osorio E, Ruiz-Requena M, Pashley D, Tay F, Toledano M. Zinc reduces collagen degradation in demineralized human dentin explants. *J Dent.* 2011; 39(2), 148–1

ANEXOS



Comité Ético-Científico
Universidad de Valparaíso
CEC-UV

ACTA DE EXTENSIÓN DE APROBACIÓN BIOÉTICA CEC126-16

Título del protocolo: "Study of the impact of radiation in dental hard tissues and in vitro evaluation Of restorative new strategies for rehabilitation of irradiated patients by head And neck cancer"
Protocolo número: CEC126-16
Fuente de Financiamiento FONDECYT REGULAR N° 1161435
Condición: Aprobado.
Fecha de aprobación: 22 de enero de 2019.
Fecha expiración aprobación: 22 de enero de 2020.

El Comité Ético-científico de la Universidad de Valparaíso CEC-UV, revisa el protocolo "Study of the impact of radiation in dental hard tissues and in vitro evaluation Of restorative new strategies for rehabilitation of irradiated patients by head And neck cancer", del Prof. Miguel Muñoz, adscrito a la Facultad de Odontología.

Para su evaluación el Comité de Ética Científica revisó los siguientes antecedentes:

- Solicitud de extensión de aprobación bioética presentada por el investigador
- Protocolo de Investigación original presentado
- Resumen ejecutivo
- Consentimiento Informado
- CV investigador

En la valoración bioética del proyecto, se consideraron los siguientes aspectos: Valor Social y Científico, Validez Científica, Relación Riesgo/Beneficio, selección justa de Sujetos, Consentimiento Informado, respeto por los Sujetos de Investigación y conflictos de interés.

CONCLUSIÓN: En base a los antecedentes evaluados, se acuerda que este proyecto respeta los criterios básicos contemplados en las Pautas Éticas para la Investigación Biomédica en Seres Humanos vigentes (CIOMS, 2002) y Guía de Buenas Prácticas Clínicas, así como la legislación vigente. Este protocolo se encuentra **APROBADO**, para continuar su ejecución, hasta el 22 de enero de 2020.

Félix Aguirre
Vicepresidente

Raúl Escobar
Representante de la Comunidad,
Miembro Titular

Patricia Acuña
Miembro Titular

Héctor Arancibia
Miembro Titular

Marcelo Arancibia
Miembro Titular

Amelia Bayo
Miembro Titular

Manuel Cárdenas
Miembro Titular

Martin Davis
Abogado, Miembro Titular

Mariane Lutz
Miembro Titular

Eva Madrid
Miembro Titular

