

Citotoxicidad de los adhesivos dentinarios

Claudia Maya,¹ Maricela Vallejo,² Nancy Eraso Martinez³

Resumen

Los adhesivos son materiales de amplio uso en procedimientos de odontología restauradora que han tenido gran evolución en los últimos años, su función principal es unir la estructura dentaria previamente grabada al material restaurativo con el fin de crear una unión micromecánica y química fuerte y duradera, su composición y las complejas reacciones químicas que originan el fenómeno adhesivo tienen influencia en su comportamiento biológico. El grado de respuesta celular a la exposición de agentes adhesivos varía de leves a severas dependiendo de muchos factores como: la composición química del adhesivo, tipo de test utilizado, línea celular expuesta al material, presencia de bacterias en la interfase diente-restauración y en especial el espesor de tejido remanente, pues la dentina es una barrera natural eficaz que evita el paso de agentes nocivos hacia el tejido pulpar. La finalidad de este artículo de revisión es dar a conocer al medio odontológico, los últimos avances en el tema de citotoxicidad de adhesivos dentinarios. Esta guía bibliográfica busca motivar nuevas investigaciones en el área de biocompatibilidad de materiales de uso odontológico, principalmente, porque los clínicos los usan a diario sobre sustratos biológicos, y pueden potencialmente ocasionar efectos nocivos a nivel local o sistémico. Para la organización de la literatura fue necesario seleccionar dos grandes temas: adhesivos dentinarios y biocompatibilidad, para posteriormente hacer énfasis en los últimos trabajos publicados sobre citotoxicidad de adhesivos. La información se obtuvo principalmente de bases de datos como: Sciencedirect, Wiley Interscience, Springerlink y de fuentes indexadas tanto de carácter nacional como internacional. **Palabras clave:** Adhesivos dentinarios, Material restaurativo, Citotoxicidad, Biocompatibilidad. **Rev.CES Odont.2010;23(2)79-90**

Citotoxicity of dental adhesives

Abstract

Adhesives are materials widely used in restorative dentistry procedures that have evolved greatly in recent years; their main function is to attach the previously etched dental structure to the restorative material in order to create a strong and lasting micromechanical union; their composition and the complex chemical reactions that cause the bonding phenomenon influence their biological behavior. The degree of cellular response to exposure of bonding agents varies from mild to severe depending on many factors such as the chemical composition of the adhesive, type of test used, a cell line exposed to the material, presence of bacteria in the tooth-restoration interphase and especially the tissue thickness remnant, as the dentin is an effective natural barrier that prevents the passage of harmful agents into the pulp tissue. The purpose of this review article is to introduce the dental circle, the latest advances in the field of cytotoxicity of dentin adhesives. This bibliographic guide seeks to encourage new research in the area of biocompatibility of dental materials, mainly because clinicians use them daily on biological substrates, and they can potentially cause harmful effects locally or systemically. For the organization of the literature it was necessary to select two main themes: dentin bonding and biocompatibility, to further emphasize recent works published on cytotoxicity of adhesives. The information was obtained mainly from databases such as ScienceDirect, Wiley Interscience, SpringerLink and from indexed sources both national and international. **Key words:** Dental adhesives, Restorative material, Citotoxicity, Biocompatibility. **Rev.CES Odont.2010;23(2)79-90**

Introducción

La actual demanda de tratamientos estéticos restauradores por parte de los pacientes, ha estimulado en gran parte el desarrollo de nuevos materiales con el fin de simplificar las técnicas y facilitar el trabajo de los profesionales de ésta área. La mayoría de procedimientos de la odontología estética incluyen materiales con base en resina,

que de acuerdo a su función pueden clasificarse en: sustancias adhesivas, resinas fluidas y otras que funcionan como material de obturación o composites. Las primeras, buscan aumentar la longevidad de las restauraciones, evitando la percolación marginal; igualmente sirven para prevenir la entrada de microorganismos del medio ambiente oral, y obliterar

1. Rehabilitador Oral. Docente investigadora Universidad Cooperativa de Colombia - Sede Pasto.
2. Rehabilitador Oral. Docente investigadora Universidad Cooperativa de Colombia - Sede Pasto.

3. Endodoncista. Docente investigadora Universidad Cooperativa de Colombia - Sede Pasto.

la estructura dentinaria disminuyendo la sensibilidad post-operatoria.¹

El fenómeno de adhesión sin duda, es el proceso que más ha revolucionado el ejercicio de la profesión odontológica en las últimas décadas. Según Van Meerbeek y cols, la adhesión en términos odontológicos, es esencialmente un proceso de remoción de minerales (calcio, fosfatos) y posterior infiltración de monómeros resinosos; su finalidad es crear una traba mecánica entre el adhesivo y la estructura dental, sellar los túbulos dentinales y así, mantener la homeostasis del medio interno del complejo dentino- pulpar. Este procedimiento se da por medio de dos mecanismos: físico y químico.²

Los adhesivos están compuestos de monómeros de metacrilato hidrofílicos, los cuales, previo grabado de la estructura dental, penetran en los túbulos dentinales expuestos e interaccionan con las fibras colágenas, formando la llamada capa híbrida, posterior a la polimerización de la sustancia adhesiva. La función de esta capa híbrida es unir la estructura dental con el material de obturación.³

Reseña histórica

El desarrollo de los agentes adhesivos inicio en los años 50, cuando Hagger lanzó al mercado uno llamado Sevitron Cavitseal. Este producto con base en el ácido glicerofosfórico dimetacrilato, tuvo éxito logrando adhesión entre una resina de curado químico y las paredes cavitarias, sin embargo, esta unión era muy inestable.^{4,5}

En 1955, Buonocuore revolucionó la odontología restauradora al descubrir que la superficie del esmalte, en contacto con el ácido fosfórico al 80% por 30 segundos, producía retenciones micromecánicas, transformando el área lisa del esmalte en irregular; aumentando la energía superficial y facilitando la penetración de resinas sin relleno. Su idea inicial surgió de la industria de barnices y lacas; el ácido fosfórico era usado para grabar superficies metálicas y facilitar la adhesión de pinturas y recubrimientos.⁶ El descubrimiento del grabado ácido dio inicio a la generación de nuevos materiales adhesivos más efectivos y a nuevas técnicas de grabado en esmalte y dentina. A los hallazgos anteriores se suman los de Bowen, quien creó una molécula capaz de adherirse al esmalte, previo grabado ácido el BISGMA (bisfenol-glicidil-metacrilato, quien lanzó un producto denominado

Cervident de la casa S:S White, mostrando un taza de fracasos clínicos superiores a un 50%, resultado atribuido a su pobre capacidad de humectancia.⁷

En 1978, la casa dental Kuraray desarrolla el primer adhesivo a base de fosfatos como un sistema de dos componentes: metacriloxietil-fenil- hidrogenofosfato e hidroximetilmetacrilato (HEMA). Su mecanismo de adhesión está fundamentado en la unión de los fosfatos con el calcio de la dentina y el esmalte sin acondicionar, obteniendo valores de adhesión bajos (3 Mpa), que en el futuro mejoraron al incorporar la técnica de grabado total.

A partir de los años 80, hubo un gran auge de los adhesivos dentinarios, a través de “generaciones”, con diversas composiciones químicas y métodos de grabado en esmalte y dentina. Adicionalmente se desarrollo el tratamiento del barrillo dentinario, la unificación de la dosificación y el incremento de los valores de adhesión; El fin era obtener mejores resultados clínicos y simplificar la técnica operatoria.

La capacidad de adhesión de los adhesivos contemporáneos se considera clínicamente aceptable. En el mercado mundial existen gran cantidad de sistemas disponibles, los cuales varían significativamente en su composición. A lo largo de la evolución de estos compuestos se han incorporado diversas modificaciones, como la adición de nuevos polímeros, la variación de las concentraciones de los ácidos utilizados y la técnica de grabado. Van Meerbeek propone una nueva clasificación de los mismos, dividida en tres grandes grupos: los materiales adhesivos que realizan grabado total en esmalte y dentina, eliminando el barrillo dentinario, los autograbadores que acondicionan e impriman la dentina y el esmalte incorporando el barrillo dentinario y finalmente, el tercer grupo de materiales basados en polialquenoatos de vidrio.⁸⁻¹⁰

Actualmente no existe una clasificación única y universal para estos sistemas, hay una gran variedad de adhesivos en el mercado que varían en su composición química, método de grabado y dosificación.

Sustratos para la adhesión

La dificultad para conseguir adhesión radica en las diferencias morfofisiológicas de los sustratos adherentes. Es decir, se hace referencia principalmente al esmalte y a la dentina, por ser los tejidos principalmente afectados

por lesiones cariosas, traumáticas y anomalías del desarrollo. Sin embargo, no hay que dejar de lado la adhesión al cemento radicular; por lo tanto, los mecanismos de adhesión varían dependiendo del sustrato.

La unión a esmalte previamente grabado es uno de los procedimientos más usados, y cuenta con una alta tasa de éxito en la odontología restauradora. Este tratamiento de superficie remueve selectivamente los cristales de hidroxiapatita, transforma el área lisa de esmalte en irregular y duplica la energía superficial. Dicho fenómeno, permite la difusión de monómeros hidrofílicos de una resina de baja viscosidad, la cual por capilaridad, se ve atraída hacia las microporosidades, la penetración de resina dentro de los poros micrométricos, crea una traba micromecánica con altos valores de retención.^{11,12}

En contraste con la adhesión a esmalte, la de la dentina es un proceso más complejo y dinámico, debido principalmente a las características heterogéneas de este tejido, como: Su baja energía libre, la presencia de los túbulos dentinales y el barrillo dentinario producto de la preparación cavitaria. Así, al disminuir la permeabilidad en aproximadamente un 86%, se impide el contacto íntimo entre el adhesivo y el sustrato.¹³

La unión a dentina resulta de la formación de la denominada "capa híbrida", la cual consta de monómeros polimerizados dentro de un enmallado colágeno de la dentina, formando así una traba micromecánica. Esta adhesión representa un gran desafío, no sólo por ser un tejido orgánico húmedo, sino también por la presencia de los procesos odontoblásticos que se comunican con la pulpa, produciendo movimiento de fluidos entre la cámara pulpar y la superficie externa.^{14,15}

Hasta el momento, el mecanismo de adhesión entre la dentina y el material restaurador, no se ha dilucidado completamente. Pero, esta unión se puede dar mediante cuatro mecanismos: el grabado ácido, la unión química a los componentes orgánico e inorgánico de la dentina y los fenómenos de precipitación de superficie.¹⁶

Respuesta pulpar a los materiales adhesivos

La preservación de la vitalidad pulpar es un requisito indispensable en cualquier procedimiento en odontología restauradora. En la actualidad se afirma que, una vez sobrepasada la unión amelo-dentinaria, se entra a la

pulpa, ya que embriológica, anatómica y fisiológicamente son un mismo tejido, por esta razón, es denominado complejo dentino-pulpar; para la utilización adecuada de los sistemas adhesivos es necesario el conocimiento estructural y funcional de dicho órgano.

Cualquier sustancia aplicada a los túbulos recién cortados produce algún tipo de reacción; si la lesión es leve, se produce un aumento de la permeabilidad tubular, si por el contrario, la lesión es más severa, puede producir vacuolización y atrofia de la capa odontoblástica. Los efectos pueden extenderse a la capa subodontoblástica y pueden generar: migración de células de defensa, cambios en la sustancia fundamental, trombosis y hemorragias. Por esto, es indispensable el uso de materiales biológicamente apropiados.¹⁷

El grado de respuesta pulpar a los procedimientos restaurativos depende principalmente de dos factores: la preparación cavitaria y los materiales de obturación empleados.

Efectos pulpares de la preparación cavitaria

Aun no se ha creado un material artificial que proteja mejor el tejido pulpar que la dentina. Por esta razón, es muy importante que al realizar una preparación cavitaria se intente conservar la mayor cantidad de dentina sana. La distancia entre la preparación y la pulpa, es usualmente denominada "grosor de dentina remanente", muchos estudios han demostrado que un remanente dentinario de 0.5 mm de grosor, reduce el nivel de toxicidad de un material restaurativo en un 75%; 1mm de dentina remanente lo hace en un 90%, y un remanente de 2 mm produce reacciones muy leves o nulas.¹⁸⁻²⁰

Por otro lado, una preparación cavitaria efectuada con adecuada irrigación, velocidad rotacional y corte de las fresas utilizadas, producen cambios circulatorios importantes, reducen el flujo sanguíneo pulpar entre un 13 y un 49%. Estos valores aumentan notoriamente si la preparación se realiza sin irrigación, por lo tanto las maniobras operatorias deben realizarse dentro de condiciones clínicas aceptables.

La respuesta a nivel histológico a la preparación dentaria con pieza de mano de alta velocidad, incluye desorganización de los organolas celulares, y un cambio de posición de núcleo hacia el interior de los túbulos dentinarios por calor y disecación. Ocasiona así una

alteración en el funcionamiento de la dentina afectada, y un movimiento del líquido intersticial. A continuación se produce una respuesta inflamatoria y una formación de dentina reparativa circundante a los túbulos afectados.²¹

Así mismo, el calor que generan los procesos de corte, (dependiendo del grado de refrigeración, tipo de fresa y tiempo de contacto), produce zonas de colágeno homogenizado, desaparición de zonas celulares, degeneración celular generalizada y abscesos localizado.²²

Respuesta pulpar a los adhesivos

Las reacciones observadas en el tejido pulpar a causa de los agentes adhesivos son atribuidas a varias causas: permeabilidad dentinal; grosor de dentina remanente; técnica de grabado ácido y efectos del mismo; aplicación o no de bases intermedias, infección residual, rupturas por contracción; y raramente, debido a efectos tóxicos del material. Si las resinas adhesivas son manipuladas y aplicadas de forma apropiada, se espera que sean bien toleradas por el tejido pulpar. Se considera que las reacciones pulpares se deben fundamentalmente, al efecto de bacterias en la interface diente-restauración.²³

Pruebas de Biocompatibilidad

En 1987 la sociedad europea de biomateriales definió la biocompatibilidad como la habilidad de un material para generar una respuesta biológica apropiada al ser aplicado sobre un tejido. Esta definición implica la interacción con el huésped, el material y la función esperada. La biocompatibilidad es un proceso dinámico continuo ya que la respuesta del cuerpo a los materiales dentales, sufre cambios con el paso del tiempo por las condiciones del ecosistema oral (humedad, corrosión, fatiga).²⁴

Anteriormente, para observar si ocasionaban efectos adversos en los tejidos o algún tipo de reacción alérgica, los nuevos materiales eran directamente probados en humanos. Desde hace muchos años esto no ha sido éticamente aceptable, en la actualidad los nuevos materiales deben ser sometidos en forma sistemática por varias pruebas, antes de ser lanzados al mercado y ser considerados de uso seguro en el hombre. Distintas organizaciones internacionales como la American Society for testing and Materials (ATSM) y la American Estándar National Institute / American Dental Association

(ANSI/ADA), realizaron diferentes niveles de pruebas: iniciales, secundarias y por último, pruebas de uso en animales y humanos.

Langeland en 1984 propuso la siguiente secuencia: pruebas iniciales, secundarias y de uso:

Las pruebas iniciales incluyen modelos de citotoxicidad *in vitro*; los materiales se exponen a grupos celulares cultivados en un laboratorio, siendo útiles para evaluar: morfología celular, alteración en la síntesis de proteínas, respiración mitocondrial y diversas actividades metabólicas y enzimáticas. Son relativamente rápidas, económicas, de fácil estandarización y reducen tasas de fracaso en pruebas *in vivo* que pueden resultar de más alto costo.

Las pruebas secundarias evalúan la reacción de los materiales en animales de experimentación. Observan si causan daño local, sistémico, reacciones alérgicas o inmunogénicas; entre algunos ejemplos de ellas se encuentran: la implantación, la sensibilización cutánea, la irritación de mucosas y el uso de barreras.²⁵

Por último, las pruebas de aplicación clínica en animales y humanos, se realizan sobre un tejido específico, aquí, los materiales odontológicos ejercerán su acción terapéutica en condiciones similares a las de el futuro uso clínico. En resumen, las pruebas de biocompatibilidad permiten evaluar con gran exactitud las propiedades de los biomateriales, evitando al máximo cualquier riesgo a la salud del paciente.^{26,27}

Citotoxicidad

En las últimas décadas en las ciencias médicas, la metodología de los cultivos celulares *in vitro* ha tenido un campo muy amplio en la investigación, siendo un sistema efectivo para el tamizaje de la toxicidad de rutina de muchos materiales antes de profundizar en estudios *in vivo*. Los ensayos *in vivo* en animales de laboratorio presentan limitaciones no sólo por la oposición creada por grupos sociales defensores de animales, sino también, por razones de orden ético y económico. Si bien es cierto que el uso de animales es aún imprescindible para algunos tipos de experimentación en el área biomédica, hay muchas situaciones en las que la tecnología *in vitro* pueden sustituir eficientemente los estudios *in vivo*. Se han realizado trabajos de validación que han demostrado que existe una alta correlación (97 %) entre los ensayos de toxicidad *in vitro* e *in vivo*.²⁸

Estas pruebas son relativamente simples, rápidas y de bajo costo, dando una indicación valorable sobre cuales materiales deberían ser descartados o sujetos a evaluaciones posteriores.²⁹ Las limitaciones que presentan los estudios *in vitro* son: la dificultad para simular las condiciones *in vivo* y su cuestionable relevancia clínica.³⁰

El uso de los cultivos celulares con fines experimentales, ha sido posible gracias a la creación de bancos de células que se mantienen congeladas en nitrógeno líquido (-190° C), donde es posible encontrar una gran diversidad de líneas celulares a disposición de la comunidad científica mundial. El más importante es el American Type Culture Collection (ATCC) en Rockville, Maryland, en la actualidad cuenta con más de 2.500 tipos de líneas celulares de origen animal y humano.

Dentro de las pruebas de citotoxicidad *in vitro*, se puede observar el comportamiento de células vivas en un ambiente controlado, siendo posible evaluar: la inhibición del crecimiento celular; la permeabilidad de membrana; la replicación y transcripción de ácido desoxirribonucleico; la síntesis de proteínas, hormonas y enzimas; el metabolismo energético; la transformación celular; la mutagénesis y la carcinogénesis, entre otros. A continuación, se presentan algunas de las pruebas de citotoxicidad más usadas para la evaluación de materiales dentales.

Pruebas de permeabilidad de la membrana celular

Este tipo de pruebas evalúan la viabilidad celular de acuerdo al halo de inhibición de crecimiento, o el grado de penetración de colorantes vitales, no vitales o isótopos radioactivos. Esto se realiza observando la facilidad con que un colorante pueda atravesar la membrana celular; estos experimentos se basan en la premisa de que la pérdida de la permeabilidad de la membrana es equivalente a un daño celular severo o a la muerte celular; la proporción relativa de las células coloreadas o no, refleja el número exacto de células vivas o muertas y en consecuencia, la viabilidad del conjunto de la población celular. El conteo de las diferentes poblaciones celulares puede ser efectuado por métodos microscópicos, citometría de flujo y espectrofotometría.³¹

Los colorantes empleados en éstos métodos se pueden agrupar en tres categorías: Colorantes vitales o de exclusión, colorantes supravitales o de exclusión y

colorantes que necesitan una etapa de metabolización intracelular.

Los más utilizados son los de exclusión, quienes penetran únicamente en células con alteraciones de la permeabilidad de la membrana plasmática o células muertas como por ejemplo: el tripan azul, la eosina y la eritrosina B entre otros.³²

Biosíntesis enzimática

El ensayo MTT (Bromuro de 3-(4,5- dimetil-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazólico), fue desarrollado por Mosmann en 1983 y modificado en 1986 por Francois Denizot y Rita Lang. Consiste en una prueba de biosíntesis enzimática, que ha demostrado ser de gran confiabilidad para evaluar la actividad biosintética o actividad enzimática a nivel mitocondrial. En ésta prueba, la deshidrogenasa mitocondrial (enzima de todas las células vivas), oxida la molécula amarilla de MTT, generando una coloración azul (formazan) de diferentes intensidades, de acuerdo con el grado de viabilidad de la célula. De esta forma es cuantificada la cantidad de MTT reducido mediante un método colorimétrico, pues se produce como consecuencia de la reacción, un cambio de coloración del amarillo al azul. La capacidad de las células para reducir al MTT, constituye un indicador de la integridad de las mitocondrias y su actividad funcional es interpretada como una medida de la viabilidad celular. La determinación de la capacidad de las células de reducir al MTT a formazan después de su exposición a un compuesto, permite obtener información acerca de la toxicidad del producto que se evalúa.

El MTT es considerado un método confiable para evaluar citotoxicidad, se puede utilizar en la evaluación de cualquier tipo de cemento, es una prueba económica y simple ya que no requiere radioisótopos.³³

Pruebas indirectas (uso de barreras)

En la gran mayoría de test de citotoxicidad, el material a estudiar entra en contacto directo con los cultivos celulares. Investigadores reconocen que *in vivo*, existe poco contacto directo entre las células y el material, esto debido a la presencia de barreras naturales como un epitelio queratinizado, dentina o matriz extracelular. Debido a lo anterior, se han ideado pruebas *in vitro* utilizando barreras para simular mejor las condiciones *in vivo*.

Un tipo específico de ensayo cualitativo indirecto es el método de cubierta de agar. El agar es una barrera entre las células y el material evaluado, las sustancias difunden a través de esta sustancia causando lesión celular y formando un halo de inhibición.³⁴

Pruebas de barrera dentinal

A lo largo del tiempo, innumerables investigaciones han demostrado que la dentina forma una capa semipermeable, por la cual atraviesan sustancias nocivas que pueden lesionar el tejido pulpar. Por este motivo, diversos ensayos utilizan discos de dentina interpuestos entre el material y el cultivo celular. Este método ofrece la ventaja de difusión direccional entre el material restaurador y el medio celular.³⁵

Citotoxicidad de adhesivos dentinarios

Líneas celulares de distinta naturaleza y origen, han sido utilizadas en investigaciones de toxicidad de materiales en el área odontológica, estas se pueden dividir en dos grandes grupos: 1). Derivadas de animales (V79. L 9-29 y 3T3). Las células obtenidas de tejidos humanos (fibroblastos humanos gingivales, odontoblastos y células del epitelio oral entre otras), se deben mantener en condiciones especiales y en medios de cultivo estandarizados.³⁶

En las células pulpares humanas fueron expuestas concentraciones tóxicas de tres agentes adhesivos: Single Bond®, Syntac print® y Prime Bond®, evidenciado microscópicamente respuestas agresivas como: una marcada contracción celular, pérdida de microtúbulos y microfilamentos, alterando la motilidad y produciendo alteraciones morfológicas.³⁷ Estos resultados coinciden con otros estudios, donde se presentaron cambios celulares similares, y además, aumento del espacio intercelular al exponer células pulpares a resinas cementantes.³⁸

Otro aspecto importante que determina el grado de citotoxicidad de un agente adhesivo, es el tipo de solvente utilizado. En un estudio realizado por Szep en fibroblastos gingivales, usando dos adhesivos comerciales como Single Bond, el cual tiene como solvente el etanol y Prime bond, cuyo solvente es la acetona, encontró como resultado menores valores de toxicidad en el adhesivo a base de etanol.³⁹

Muchos estudios concluyeron que algunos componentes de los materiales de adhesión como el Bis-GMA (Bisfenol A Glicidil Metacrilato), los monómeros alifáticos como el dimetacrilato de uretano UDMA, el TEGDMA (dimetacrilato de trietilenglicol) y el HEMA (hidroxietilmetacrilato), pueden producir daños celulares potenciales. Al respecto existe gran controversia entre los investigadores.⁴⁰⁻⁴² Por otro lado, otros estudios descubrieron que la canforoquinona (fotoiniciador), presentaba altos niveles de citotoxicidad y que además, actúa como agente mutagénico.⁴³

Jontell y cols., realizaron un trabajo *in vitro* en cultivos de células pulpares de roedores expuestos a diferentes componentes a base de resina (UDMA, TEGMA, bis-GMA, BPA entre otros). Encontraron que todos causaban alteración en las células inmunológicas, siendo la sustancia más tóxica el bis-GMA. Por otro lado, Costa afirmó que la acidez de estos materiales causaba efectos citopáticos en diferente magnitud.⁴⁴

Otras investigaciones afirman que el HEMA, constituyente básico de la mayoría de los adhesivos, por su bajo peso molecular, tiene la capacidad de difundirse hacia los túbulos dentinarios, llega a la pulpa y causa efectos tóxicos debido a que los macrófagos no lo pueden fagocitar, esto ocasiona una respuesta inflamatoria y una reabsorción interna.⁴⁵

Las técnicas adhesivas actuales incluyen grabado ácido y adhesivos como terapia de recubrimiento directo e indirecto. Algunos autores aseguran que el grabado dentinario profundo y la aplicación de agentes adhesivos, producen un fenómeno inflamatorio leve y posterior formación de dentina reparativa. Sin embargo, otros afirman que el grabado ácido y la posterior restauración, causan irritación, patología pulpar y fenómenos histopatológicos de reabsorción interna.⁴⁶ Estudios clínicos de investigación han demostrado que el uso de sistemas de grabado dentinario en cavidades profundas, producen efectos pulpares adversos.⁴⁷

Algunos investigadores han encontrado que la aplicación de adhesivos en dentina profunda desencadena reacciones desfavorables, producto de la absorción del monómero libre. Por el contrario, Costa y cols., utilizaron dientes de ratas para evaluar el efecto de materiales como recubrimientos pulpares; entre los agentes adhesivos, se reportó inicialmente una respuesta

inflamatoria leve, y la posterior formación de dentina terciaria o reparativa.⁴⁸

Líneas celulares como los fibroblastos de ratón L-929 y las células de hámster V-79, se han puesto en contacto con concentraciones tóxicas de agentes adhesivos, evidenciando respuestas agresivas que incluyen: contracción celular, grandes cambios morfogénicos, pérdida de microtúbulos y microfilamentos que afectan el movimiento celular; incluso algunos estudios han demostrado que pueden producir efectos mutagénicos.⁴⁹

Se ha comprobado que, los adhesivos dentinarios tienen efectos tóxicos en células similares a odontoblastos inmortalizados y fibroblastos humanos, reduciendo su actividad mitocondrial.⁵⁰ En un estudio realizado por Spzep y cols., se probaron varios adhesivos dentales modernos y todos causaron efectos citotóxicos en fibroblastos gingivales de humanos. Sin embargo, la respuesta biológica a la exposición directa de agentes adhesivos, podría ser exagerada y de poca relevancia clínica, ya que en los estudios en donde se interpusieron barreras como cubiertas de agar, filtros miliporo o discos de dentina como barrera, estos materiales no mostraron efectos tan tóxicos, por lo tanto, ellos concluyeron que el daño a las células pulpares era improbable por la capa de dentina que protege al órgano pulpar.

Varios sistemas adhesivos de autograbado han sido introducidos al mercado dental en la última década, estos no requieren grabado ácido previo, simplificando el procedimiento clínico; sus resultados a corto plazo han sido satisfactorios.⁵¹ En un estudio *in vitro* Vajrabhaya y cols., usaron el test MTT para evaluar agentes adhesivos y encontraron que los de grabado total fueron más citotóxicos que los de autograbado, aunque resultados de estudios *in vivo*, evidenciaron una menor respuesta inflamatoria de los adhesivos de autograbado al utilizarlos como recubrimiento directo en exposiciones pulpares, e incluso en algunos casos con formación de dentina reparativa.⁵² Por otro lado Grobler y cols, utilizaron, igualmente, la prueba MTT en células pulmonares de ratón con adhesivos a dos concentraciones diferentes (3T3), y en cuatro líneas celulares de fibroblastos, demostraron que al usar adhesivos en diluciones menores, éstos presentarán mayores niveles de citotoxicidad.⁵³

Muchos de los componentes de los adhesivos actuales, reducen la síntesis de ADN y de proteínas, produciendo

alteraciones en el metabolismo celular de forma crónica e irreversible, que muchas veces ocasionan necrosis pulpar. Por el contrario, otros autores atribuyen los efectos citotóxicos de los adhesivos a problemas relacionados con la manipulación del material por parte del operador, debido a que la toxicidad de este puede potenciarse por su polimerización incompleta y por la contaminación con humedad al aplicarlo; esto inhibe el grado de conversión de monómeros a polímeros, aumentando la solubilidad del material y su consecuente efecto irritante.⁵⁴

Bouillaguet en el año 2000 comprobó que el HEMA, en concentraciones sub-letales durante seis semanas, provocaba disminución de la viabilidad y alteraciones en la respiración mitocondrial en macrófagos humanos, concluyendo que los mecanismos de muerte celular aun no están claros.⁵⁵

Citotoxicidad y radicales libres

Estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que los efectos citotóxicos de los sistemas adhesivos son producidos por monómeros sin reaccionar, los cuales pueden estar influenciados por varios factores, dentro de los cuales, el más importante es el grado de conversión, el cual representa el número de uniones de doble carbono que se convierten enlaces covalentes simples aumentando el tamaño y peso molecular, incluso cuando la intensidad de la lámpara de fotocurado es la adecuada, pueden encontrarse una pequeñas cantidades de monómeros residuales.⁵⁶⁻⁵⁸

La generación de radicales libres, se produce por una incompleta polimerización de los materiales durante las primeras horas después de la fotoactivación. Estas son moléculas inestables y de gran poder reactivo que pueden difundirse hacia los tejidos adyacentes, su citotoxicidad está comprobada en numerosos estudios sobre células pulpares y gingivales.⁵⁹

En varios estudios se evaluaron adhesivos sin polimerizar versus materiales polimerizados adecuadamente, de acuerdo a las indicaciones de la casa comercial, y se encontró que los materiales sin polimerizar presentaron un mayor grado de citotoxicidad.⁶⁰ Por otro lado, la reacción también es dependiente de la permeabilidad dentinaria y el grosor de dentina remanente. La capa de dentina residual absorbe los monómeros libres y de esta manera contribuye a disminuir el efecto tóxico del material.^{61,62}

La formación de radicales libres es uno de los mayores inconvenientes de los materiales de restauración poliméricos. El número de productos que migran hacia el órgano dentino-pulpar está relacionado con el peso molecular y el grado de difusibilidad de las moléculas del polímero; dichas sustancias pueden provocar cambios en el pH del medio, ocasionar cambios en los organelos celulares y alterar el metabolismo lipídico.⁶³

Efecto de la microfiltración:

La consecuencia primaria, producto de la contracción de polimerización de los materiales poliméricos, es la aparición de una brecha o gap en el margen de la restauración que depende, básicamente del grado de hibridación dentinaria con agentes adhesivos, y del número de incrementos al aplicar el material.

Estudios recientes han demostrado que las reacciones inflamatorias a nivel pulpar, producto de los materiales restaurativos es mínima y de carácter transitorio, y que las reacciones adversas severas o necrosis, ocurren a causa invasión bacteriana.⁶⁴

Ferreira y cols., concluyeron que la infección bacteriana producto de la microfiltración, es el principal factor causal de afección pulpar y que una hibridación eficiente, evita la migración de bacterias a la pulpa, por lo tanto, los sistemas adhesivos actuales son biocompatibles.⁶⁵

Hebling y cols., encontraron asociación entre la presencia de bacterias en las paredes de las cavidades bajo las restauraciones e inflamación pulpar, por lo tanto, la respuesta pulpar no depende exclusivamente del material de obturación empleado, si no de la capacidad de sellado en la unión entre el diente y el material de obturación que impide filtración bacteriana.⁶⁶

Discusion

Los adhesivos dentinarios como cualquier biomaterial no son sustancias inertes, generan una respuesta biológica y potencialmente pueden producir daños específicos a nivel local y/o sistémico. Su compatibilidad con los sustratos biológicos es un requisito fundamental para cualquier actividad clínica. La odontología adhesiva se encuentra en una constante búsqueda de materiales con buenas propiedades estéticas, funcionales y de gran compatibilidad biológica, ya que estos asumen las funciones de los tejidos en los órganos naturales, siendo

capaces de imitar en lo posible las propiedades del tejido en su ambiente biológico.

El potencial de daño celular, causado por monómeros y otras sustancias contenidas en los sistemas adhesivos, puede variar de un material a otro debido a diferencias en su composición química, produciendo diversos efectos en los tejidos.⁶⁷

La composición y cantidad de componentes liberados por los agentes adhesivos, tienen influencia en su comportamiento biológico.^{68,69} Cuando el contacto de estos es directo con las células, los monómeros de los adhesivos producen una intensa actividad citotóxica, esto se evidencia en estudios en donde se aplican directamente adhesivos sobre áreas de exposición pulpar,⁷⁰ La presencia de la dentina como una barrera biológica, puede modificar la acción tóxica especialmente por su capacidad *buffer*.⁷¹ De ahí la importancia de conservar en lo posible dentina sana remanente y en estratos profundos utilizar recubrimientos pulpares como agentes aislantes entre la células y adhesivo.

En contraste con estos resultados en células pulpares humanas, estudios en animales evidencian lo contrario. Hafez y colaboradores realizaron recubrimientos pulpares directos en dientes de mono usando adhesivos, sus observaciones histo-patológicas demostraron que los odontoblastos producían dentina reparativa adyacente a la superficie de resina.⁷² Asimismo investigadores como Imaizumi, Inoue y Onoe utilizaron animales para realizar recubrimientos pulpares directos con adhesivos que contenían 4- META dando como resultado formación de dentina reparativa, estos estudios fueron realizados en condiciones de esterilidad y en pulpas sanas sin inflamación previa.^{73,74}

Otro aspecto relevante que influencia la respuesta celular son los efectos mecánicos producidos durante la preparación cavitaria, al respecto es importante el manejo cuidadoso del instrumental rotatorio, utilizando fresas en buen estado, velocidad rotacional adecuada, irrigación abundante y desgaste intermitente para evitar desecación dentinaria y afección a los odontoblastos por aumento de la temperatura pulpar. Por otro lado, un factor adicional que condiciona la respuesta celular a los agentes de unión a dentina es la filtración bacteriana, por esto es fundamental respetar los pasos operatorios, para evitar la presencia de bacterias en la interface diente-restauración, logrando conseguir una hibridación eficiente y segura que garantice tanto longevidad de la

restauración como el estado de salud del remanente biológico. En este sentido, la durabilidad, de la unión adhesiva es un factor protector determinante de las células pulpares, por esto es importante la estabilidad del agente de unión a lo largo del tiempo ya que son materiales susceptibles a la biodegradación. En la actualidad la alteración del colágeno dentinario se atribuye a la acción de un grupo de enzimas capaces de degradarlo: las metaloproteinasas (MMP).⁷⁵

Estas enzimas están presentes en la matriz dentinaria y contribuyen al deterioro progresivo de la capa híbrida. Estudios recientes demostraron que la clorhexidina tiene la capacidad de inhibir la actividad colagenolítica de las metaloproteinasas y su aplicación además de ser un agente antimicrobiano es un factor protector de la unión diente-resina.^{76,77}

Por otro lado, un factor adicional que condiciona la respuesta celular a los agentes de unión a dentina es la filtración bacteriana, por esto es fundamental respetar los pasos operatorios, para evitar la presencia de bacterias en la interfase diente-restauración, logrando conseguir una hibridación eficiente y segura que garantice tanto longevidad de la restauración como el estado de salud del remanente biológico.

A pesar del desarrollo constante de la biomedicina en cuanto a adhesivos dentinarios se refiere, aun la ciencia se encuentra distante de encontrar un material adhesivo ideal. Los sistemas actuales presentan problemas como la degradación química, irritación del polímero a la mucosa oral, problemas alérgicos y toxicológicos. Son escasas las investigaciones acerca de la biocompatibilidad de los adhesivos poliméricos; el mundo científico se ha dedicado a estudiar, en su mayoría, sus propiedades físico-mecánicas, más que su compatibilidad con los tejidos humanos,⁷⁸ se hace por lo tanto necesario realizar más estudios que evalúen los efectos tóxicos de estos materiales a nivel celular, con nuevas metodologías que puedan simular de manera más eficiente las condiciones *in vivo*.

Conclusiones

- En la literatura encontrada, existe disparidad de criterios e incongruencia entre las distintas investigaciones, la variabilidad de estos resultados es multifactorial: Diferencias en la metodología, métodos de medición, línea celular empleada y tipo de adhesivo utilizado entre otras.

- El grosor de dentina remanente, es un factor crítico que condiciona el grado de respuesta pulpar ante los sistemas adhesivos, en general remanentes menores a 0.5mm, evidencian reacciones pulpares mayores y muchas veces irreversibles.
- Los agentes adhesivos pueden ocasionar respuestas celulares de diferente magnitud, dependiendo de muchos factores inherentes a los materiales y al sustrato (grosor de dentina remanente y permeabilidad dentinaria).
- El grado de citotoxicidad de las sustancias adhesivas varía de baja a severa toxicidad, dependiendo de variables como: el grado de sensibilidad de la línea celular, la composición química del adhesivo, el protocolo experimental empleado, el grado de polimerización y el uso de barreras entre la célula y el material.
- Algunos de los posibles efectos citotóxicos pueden ser atribuidos a una manipulación inadecuada del material, es por esto indispensable el control de las condiciones clínicas para evitar daños al órgano dentino pulpar.
- Aún no existe un adhesivo ideal que cumpla con propiedades físicas, mecánicas, estéticas y biológicas.

Referencias

1. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*. 2007;28:3757–3785.
2. Van Meerbeek B, Perdigao J, Vanherle G. Enamel and dentin adhesion. En: Summitt JB, Robbins JW, Schwartz RS, eds. *Fundamentals of operative dentistry: a contemporary approach*. 2nd ed. Chicago: Quintessence Publishing; 2002.
3. Dietschi D, Spreafico R. Adhesive metal - free restorations: current concepts for the esthetic treatment of posterior teeth. Chapter 3: *Restorative Materials*. Quintessence Publishing. 1997. p.34-54.
4. Roulet JF, Degranfe M. Adhesion. The silent revolution in Dentistry. Berlín, Germany: Quintessence Publishing; 2000.
5. Camps-Alemay I. Evolución de la adhesión a dentina. *Av Odontoestomatol*. 2004;20:11-17.
6. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*. 1955;34:849-853.

7. Latta MA, Barkemir WW. Dental adhesives in restorative contemporary dentistry. *Dent Clin North Am.* 1998;42:567-577.
8. Van Meerbeek B, Vanherle G, Lambrechts P, Braem M. Dentin and enamel bonding-agents. *Curr Opin Dent.* 1992;2:117-127.
9. De la Macorra-García JC. Nuevos materiales a base de vidrio ionómero: Vidrio ionómeros híbridos y resinas compuestas modificadas. *REDOE.* 2005;7:260-271.
10. Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vanherle G. Bonding mechanism and microtensile bond strength of 4 – META based self etching adhesive. *J Dent Res.* 2000;79:Abstract 845.
11. Lopes GC, Baratieri LN, de Andrade MA, Vieira LC. Dental adhesion: present state of the art and future perspectives. *Quintessence Int.* 2002;33:213-224.
12. Perdigao J, Frankerberger R, Rosa B, Beschi L. New trends in dentin/enamel adhesion. *Am J Dent.* 2000;13(Spec Iss):25D-30D.
13. Mamaladze M, Sanodze L, Vadachkoria D. Main concepts of dentin adhesion (review). *Georgian Med News.* 2009;168:31-37.
14. Henostroza G. Adhesión en Odontología Restauradora. Brasil: Editora Maio; 2003.p.34-38.
15. Carrillo C. Dentina y adhesivos dentinarios. Conceptos actuales. *Rev ADM.* 2006;63:45-51.
16. Perdigao J. Dentin bonding as a function of dentin structure. *Dent Clin North Am.* 2002;46:277-301.
17. Pumpido P. Biocompatibilidad de adhesivos dentinarios. *Av Odontostomatol* 2005; 21:339-345.
18. Mjor IA, Odont D. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 2: initial reactions to preparation of teeth for restorative procedures. *Quintessence Int.* 2001;32:537-551.
19. Chen RS, Liu CC, Tseng WY, Jeng JH, Lin CP. Cytotoxicity of three dentin bonding agents on human dental pulp cells. *J Dent.* 2003;31:223-229.
20. Espinosa-Fernández R, Espinosa-Sánchez D. Difusión de los adhesivos dentinarios en el complejo pulpo-dentinario. *Rev ADM.* 2005;62:5 -11.
21. Mjor IA. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 6: Reactions to restorative materials, tooth – restoration interfaces, and adhesive techniques. *Quintessence Int.* 2002,33:35-63.
22. Hilton TJ. Cavity sealers, liners, and bases: current philosophies and indications for use. *Oper Dent.* 1996;21:134-146.
23. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: a review. *Dent Mater.* 1998;12:186-193.
24. Wataha JC. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent.* 2001;86:203-209.
25. Craig R. *Materiales de Odontología Restauradora.* 11 ed. Madrid: Harcourt Brace;1998. p. 126-162.
26. Fédération Dentaire International, Commission of Dental Materials, Instruments, Equipment and Therapeutics. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. *Int Dent J.* 1980;30:140-188.
27. Schweikl H, Schmals G, Weinmann W. The induction of gene mutations and micronuclei by oxiranes and siloranes in mammalian cells in vitro. *J Dent Res.* 2004;83:17-21.
28. Dueñas A, Criollo WD, Miranda AJ, Piamba JE. Enfermedad perinatal y viabilidad celular renal postmortem in vitro en el Hospital Universitario del Valle, Cali. *Colomb Med.* 1996; 27:110-116.
29. Vajrabhaya L, Pasasuk A, Harnirattisai C. Cytotoxicity evaluation of single component dentin bonding agents. *Oper Dent.* 2003;28:440-444.
30. Moharamzadeh K, Brook IM, Van Noort R. Biocompatibility of resin-based dental materials. *Materials.* 2009;2:514-548.
31. Slater K. Cytotoxicity tests for high-throughput drug discovery. *Curr Opin Biotechnol.* 2001;12:70-74.
32. Rodríguez IA. Efecto citotóxico de los sistemas adhesivos dentales. Estudio microscópico y microanalítico [tesis doctoral]. España: Universidad de Granada; 2005.
33. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 1983;65:55-63.
34. Schmaltz G, Arenholt-Bindslev D. *Biocompatibility of dental materials.* Berlín, Germany: Springer; 2009.p.18.
35. Gillam DG, Mordan NJ, Newman HN. The dentin disc surface: a plausible model for dentin physiology and dentin sensitivity evaluation. *Adv Dent Res.* 1997;11:487-501.

36. Costa CA, Hebling J. Biología del complejo dentino-pulpar en relación a los materiales adhesivos. En: Gilberto Henostroza. Adhesión en Odontología Restauradora. Río de Janeiro: Editora Maio; 2003. p.163-193.
37. Cheng RS, Liu CC, Tseng WY, Jeng JH, Lin CP. Cytotoxicity of three dentin bonding agents on human dental pulp cells B. *J Dent.* 2003;31:223-229.
38. Kong N, Jiang T, Zhou J. Cytotoxicity of polymerized resin cements on human dental pulp cells in vitro. *Dent Mater.* 2009;25:1371-1375.
39. Porto IC, Andrade AK, Guênes GM, Ribeiro AI, Braz R, Castro CM, In vitro potential cytotoxicity of an adhesive system to alveolar macrophages. *Braz. Dent. J.* 2009; 20:195-200.
40. Akimoto N, Kohno A, Otsuki M, Cox C. Biocompatibilidad del sistema Clearfil Liner Bond 2, Clearfil AP-X sobre dientes expuestos y no expuestos de primates Quint Ed Esp. 1999;12:303-316.
41. Costa CA, Vaerten MA, Edwards CA, Hanks CT. Citotoxic effects of current dental adhesives system on immortalized odontoblast cell line MPDC 123. *Dent Mater.* 1999;15: 434-441.
42. Modena KC, Casas-Apayco LC, Atta MC, Costa C, Heblin J, Sipper CR, et al. Cytotoxicity and biocompatibility of direct and indirect pulp capping materials. *J Appl Oral Sci.* 2009;17:544-554.
43. Atsumi T, Murata J, Kamiyanagi I, Fujisawa S, Ueha T. Cytotoxicity of photosensitizers camphorquinone and 9 fluorenone with visible light irradiation on a human submandibular duct cell line 'in vitro'. *Arch Oral Biol.* 1998;43:73-81.
44. Jontell M, Hanks CT, Bratel J, Bergenholtz G. Effects of unpolymerized resin components on the function of accessory cell derived from de rat incisor pulp. *J Dent Res.* 1995;74:1162-1167.
45. Goldberg M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. *Clin Oral Investig.* 2008;12:1-8.
46. Guertsen W. Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2000;11:333-355.
47. Chen RS, Liu CC, Tseng WY, Jeng JH, Lin CP. Cytotoxicity of three dentin bonding agents on human dental pulp cells. *J Dent.* 2003;31:223-229.
48. Costa CA, Oliveira MF, Giro EM, Hebling J. Biocompatibility of resin-based materials used as pulp-capping agents. *Int End J.* 2003; 36:831-839.
49. Issa Y, Watts DC, Brunton PA, Waters B, Duxbury AJ. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dent Mater.* 2004;20:12-20.
50. Becher R, Kopperud HM, Al RH, Samuelsen JT, Morisbak E, Dahlman HJ, et al. Pattern of cell death after in vitro exposure to GDMA, TEGDMA, HEMA and two compomer extracts. *Dent Mater.* 2006;22:630-640.
51. Grobler SR, Oliver A, Moodley D, van W Kotze TJ. Cytotoxicity of recent dentin bonding agents on mouse fibroblast cells. *Quintessence Int.* 2008;39:511-516.
52. Grobler SR, Olivier A, Moodley D, van W Kotze TW. Cytotoxicity of two concentrations of a dentin bonding agent on mouse 3T3 and human pulp fibroblast cell-lines. *SADJ.* 2004;59:368-370,372.
53. Franz A, König F, Lucas T, Watts DC, Schedle A. Cytotoxic effects of dental bonding substances as a function of degree of conversion. *Dent Mater.* 2009;25:232-239.
54. Bouillaguet S, Wataha JC, Virgillito M, Gonzalez L, Rakich DR, Meyer JM. Effect of sub-lethal concentrations of HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate) on THP-1 human monocyte-macrophages, in vitro. *Dent Mater.* 2000;16:213-217.
55. Falconi M, Teti G, Zago M, Pelotti S, Breschi L, Mazzotti G. Effects of HEMA on type I collagen protein in human gingival fibroblasts. *Cell Biol Toxicol.* 2007;23:313-322.
56. Giannini M, Arrais CA, Vermelho PM, Reis RS, dos Santos LP, Leite ER. Effects of the solvent evaporation technique on the degree of conversion of one-bottle adhesive systems. *Oper Dent.* 2008;33:149-154.
57. Arrais CAG, Pontes FM, Santos LPS, Leite ER, Giannini M. Degree of conversion of adhesive systems light-cured by LED and halogen light. *Braz Dent J.* 2007;18:54-59.
58. Franz A, König F, Lucas T, Watts DC, Schedle A. Cytotoxicity of dental bonding substances as a function of degree of conversion. *Dent Mater.* 2009;25:232-29.
59. Grobler SR, Olivier A, Moodley D, van W Kotze TW. Cytotoxicity of two concentrations of adentin bonding agent on mouse 3T3 and human pulp fibroblast cell-lines. *SADJ.* 2004;59:368- 372.
60. Schmalz G .The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials. *Eur J Oral Sci.* 1998;106:696-706.

61. Spagnuolo G, D'Anto V, Cosentino C, Schmalz G, Schweikl H, Rengo S. Effect of Nacetyl-L-cysteine on ROS production and cell death caused by HEMA in human primary gingival fibroblasts. *Biomaterials*. 2006;27:1803-1809.
62. Gerzina TM, Hume WR. Diffusion of monomers from bonding resin- resin composite combinations through dentine in vitro. *J Dent*. 1996; 24:125-128.
63. Costa CA, Mesas AN, Hebling J. Pulp response to direct capping with an adhesive system. *Am J Dent*. 2000;13:81-87.
64. Scarano A, Manzon L, Di Giorgio R, Orsini G, Tripodi D, Plattelli A. Direct capping with four different materials in humans: histological analysis of odontoblast activity. *J Endod*. 2003;29:729-734.
65. Ferreira RS. Biocompatibilidad de dos sistemas adhesivos: revisión da literatura. *Rev Bras Odont*. 1997;54:47-52.
66. Hebling J, Giro EM, Costa CA. Human pulp response after an adhesive system application in deep cavities. *J Dent*. 1999;27:557-564.
67. Galler K, Hiller KA, Ettl T, Schmalz G. Selective influence of dentin thickness upon cytotoxicity of dentin contacting materials. *J Endod*. 2005;31:396-399.
68. Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dent Mater*. 2005;21:864-881.
69. Demarco FF, Tarquinio SB, Jaeger MM, Araujo VC, Matson E. Pulp response and cytotoxicity evaluation of 2 dentin bonding agents. *Quintessence Int*. 2001;32:211-220.
70. Accorinte ML, Loguercio AD, Reis A, Costa CA. Response of human pulps capped with different self-etch adhesive systems. *Clin Oral Investig*. 2008;12:119-127.
71. Szep S, Kunkell A, Ronge K, Heidemann D. Cytotoxicity of modern dentin adhesives - in vitro testing on gingival fibroblasts. *J Biomed Mater Res*. 2002;63:53-60.
72. Hafez A, Cox C, Tarim B, Otsuki M, Akimoto N. An in vivo evaluation of hemorrhage control using sodium hypochlorite and direct capping with a one- or two-component adhesive system in exposed nonhuman primate pulps. *Quintessence Int*. 2002; 33:261-272.
73. Imaizumi N, Kondo H, Ohya K, Kasugai S, Araki K, Kurosaki N. Effects of exposure to 4-META/MMA-TBB resin on pulp cell viability. *J Biomed Mater Res*. 2000;51:241-248.
74. Inoue T, Miyakoshi S, Shimono M. The in vitro and in vivo influence of 4-META/MMA-TBB resin components on dental pulp tissues. *Adv Dent Res*. 2001;15:101-104.
75. Koshiro K, Inoue S, Tanaka T, Koase K, Fujita M, Hashimoto M, Sano H. "in vivo" degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system. *Eur J Bucal Sci*. 2004; 112: 368-375.
76. De Munk J, Van Landuyt K, Pneumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*. 2005; 84:118-132.
77. Reis A. Durability of resin dentin interfaces: effects of surface moisture and adhesive solvent component. *Den Mat*. 2004; 20: 778-787.
78. Ming-Gene T, Wen-Miin L, Tai-Chin W, San-Yue Ch. Evaluation of cytotoxicity of resin bonding materials toward human oral epithelial cells using three assay systems. *J Dent Sci*. 2009;4:178-186.

Correspondencia:

cximemaya2006@hotmail.com
maricelavl@hotmail.com

Recibido para publicación: Agosto de 2010
Aprobado para publicación: Noviembre de 2010



UNIVERSIDAD CES

Un Compromiso con la Excelencia

Resolución del Ministerio de Educación Nacional No. 1371 del 22 de marzo de 2007