



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA**

**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO**

**“Comparación en la adhesión y microfiltración inmediata y retardada del sistema adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con y sin naringenina”**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRIA EN ESTOMATOLOGÍA CON TERMINAL EN REHABILITACIÓN  
ORAL**

**PRESENTA**

**C.D. Rodrigo Gibran González Hernández**

**Matrícula 222450015**

**DIRECTOR DISCIPLINARIO**

**M.E.I Guillermo Franco Romero**

**ID. 100294988**

**DIRECTOR METODOLÓGICO**

**D. en C.S. María de los Ángeles Moyaho Bernal**

**ID. 10028926**

**LECTOR**

**M.E.I Ana Karina Ley Garcia**

**I.D 100215766**

**Junio 2024**

**Puebla, Puebla**





Oficio No. FESIEP/CIFE/056/2024

C. Rodrigo Gibran González Hernández  
Estudiante de la Maestría en Estomatología  
Con opción en Terminal en Rehabilitación Oral  
Matrícula No.: 222450015  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla  
**PRESENTE**

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, la que suscribe MEP. Gisele Nataly Rubin de Celis Quintana en mi calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; para comunicarle una noticia importante en relación con su proceso académico.

Con agrado, le informa que la Secretaría de Posgrado ha otorgado la aprobación para la impresión de su Tesis

Titulada:  
"Comparación en la adhesión y microfiltración inmediata y retardada del sistema adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con y sin pirógenina"

Esta tesis está inscrita en el libro de registros No. 06, página 01, con el No. de asignación 2021164, en la Secretaría de Investigación de esta Unidad Académica. Usted presentará esta tesis para realizar su examen profesional y así obtener el grado de Maestro en Estomatología.

La aprobación de la impresión de su tesis represente un hito significativo en su trayectoria académica y profesional. Es el reflejo de su arduo trabajo, dedicación y la profundidad de su investigación en el campo de la Estomatología.

Le insto a que proceda con los pasos necesarios para la impresión y presentación de Tesis, cumpliendo con todas las normativas y plazos establecidos por la Facultad. Esto incluye la revisión final de su documento, asegurándose de que desempeñe todos los requisitos académicos y formatos establecidos, así como la coordinación con la Secretaría para la programación de su examen profesional.

Para cualquier consulta, aclaración o información adicional, le invito a contactar directamente a este Posgrado, estamos aquí para asistirlo en cada paso restante de su proceso académico.

Sin otro particular, le reitero mi más atenta y distinguida consideración y le deseo éxito en la etapa final de esta carrera académica.

*A t e n t a m e n t e*

*"Pensar bien, para vivir mejor"*

H. Puebla de Z., a miércoles 12 de junio del 2024

MEP. Gisele Nataly Rubin de Celis Quintana  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología



\* Nota: Se anexa Formato de Impresión de Tesis - C. Rodrigo Gibran González Hernández - Matriculado en Estomatología con opción en Terminal en Rehabilitación Oral - S.I.E.P. - Facultad de Estomatología - BUAP. (originales) - p.s.c.y.o.

\*C.c.p. Archivo

\*MCO. F/AM/MEP. G/MRQ/ymem

Secretaría de Investigación y  
Estudios de Posgrado  
Facultad de  
Estomatología

31 poniente 1304, Col. Volcanes  
Puebla, Pue.  
C.P. 72410  
Tel. Of. 22'22 29 55 00  
Ext. 5526

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**  
**FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA**  
**SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL**

Para obtener el Grado de: **Maestro en Estomatología con opción terminal en Rehabilitación Oral**

**No. Registro CIFE:** 221164      **Fecha de Registro ante CIFE:** jueves 09 de septiembre del 2021.

**Título de la Tesis:** "Comparación en la adhesión y microfiltración inmediata y retardada del sistema adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con y sin naringenina".

**Nombre del alumno:** Rodrigo Gibran González Hernández.

**Matrícula:** 222450015.

**Domicilio:** Avenida Santos 2834 Fraccionamiento Balboa C.P. 21255 Mexicali, Baja California.

**Tel:** 68\*61 49 32 26.

**Fecha de ingreso a la Facultad:** lunes 03 de enero del 2022.

**Firma:** \_\_\_\_\_

**Director de Tesis:** DC. María de los Ángeles Moyaho.      **Grado académico:** Doctor en Ciencias de la Salud.

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100289266.

**Tel:** 22\*22 78 88 41.

**Firma:** \_\_\_\_\_

**Director de Disciplinario:** MEI. Guillermo Franco Romero.      **Grado académico:** Maestría en Estomatología con terminal en Integral.

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100294988.

**Tel:** 22\*21 12 06 57.

**Firma:** \_\_\_\_\_

**Director Metodológico:** DC. María de los Ángeles Moyaho Bernal.      **Grado académico:** Doctora en Ciencias de la Salud.

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100289266.

**Tel:** 22\*22 78 88 41.

**Firma:** \_\_\_\_\_

**Lector:** MEI. Ana Karina Ley García.

**Grado académico:** Maestría en Estomatología Integral.

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100215766

**Tel:** 22\*24 55 30 60.

**Firma:** \_\_\_\_\_

**Nombre y firma de aprobación del presidente de la academia/Responsable de la Maestría en Estomatología con Opción terminal en Rehabilitación Oral**

MEI. Guillermo Franco Romero

**Firma:** \_\_\_\_\_

**La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología, autoriza la impresión de la Tesis.**

MEP. Gisela Natály Rubín de Celis Quintana



**Fecha actual:** miércoles 12 de junio del 2024.

**Sello** \_\_\_\_\_



Constancia No. FESIEP/CIFE/257/2024

DC. María de los Ángeles Mayago Bernal  
Responsable del Proyecto de Investigación  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla  
P R E S E N T E

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, la que suscribe MEP. Gisela Nataly Rubín de Celis Quintana en mi calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Es mi deber informarle acerca de una actualización significativa relacionada con el Proyecto de Investigación (Colectivo) que Usted lidera.

Título original:

"Comparación en la adhesión y microfiltración inmediata y retardada del sistema adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con y sin naringenina"

Fue presentado por el equipo compuesto por:

No.	Cargos	Nombres	ID - Matrículas
1	Responsable del Proyecto de Investigación:	DC. María de los Ángeles Mayago Bernal	100288266
2	Director Disciplinario:	MEL Guillermo Franco Romero	100294988
3	Director Metodológico:	DC. María de los Ángeles Mayago Bernal	100288266
4	Asesor Externo:	DC. Maykel González Torres Laboratorio de Biotecnología Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra	S/N
5	Estudiante de Maestría en Estomatología (Terminal en Rehabilitación Oral)	C. Rodrigo Gibrón González Hernández	223450015

Dicho proyecto fue registrado en el libro de registros D6, página 01, bajo el No. de asignación 2021154, con fecha asentada el día jueves 09 de septiembre del 2021, ante el Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.).

Se hace constar, que, el día martes 12 de junio del presente año, el C.I.F.E. recibió su notificación de Cambio de Título de su Proyecto de Investigación. Tras su revisión y aprobación:

El título ha sido modificado a:

"Comparación en la adhesión y microfiltración inmediata y retardada del sistema adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con y sin naringenina"

Por lo anterior, el equipo de investigación y los roles asignados permanecen inalterados. Es importante destacar que esta actualización es para efectos legales y administrativos pertinentes.

Sin más por el momento y esperando una colaboración continua, le reitero mi disposición para cualquier consulta o aclaración.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a miércoles 12 de junio del 2024

MEP. Gisela Nataly Rubín de Celis Quintana  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología

C.c.p. Arkive  
\*MCO. FJRM/MEP. GWRCQ



Secretaría de Investigación y  
Estudios de Posgrado  
Facultad de  
Estomatología

31 poniente 1304, Col. Volcanes  
Puebla, Pue.  
C.P. 72410  
Tel. Of. 22'22 29 55 00  
Ext. 5526

## Reporte de similitud

### INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>14%</b>	<b>14%</b>	<b>2%</b>	<b>1%</b>
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorioinstitucional.buap.mx</b> Fuente de Internet	<b>5%</b>
<b>2</b>	<b>repositorio.unfv.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>3</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>4</b>	<b>repositorioinstitucional.ceu.es</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>5</b>	<b>bdigital.unal.edu.co</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>6</b>	<b>dokumen.pub</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>7</b>	<b>rsdjournal.org</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>8</b>	<b>docta.ucm.es</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>9</b>	<b>Submitted to National University College - Online</b>	<b>&lt;1%</b>

## INDÍCE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>9</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	<b>12</b>
<b>2.1 ANTECEDENTES GENERALES</b> .....	<b>13</b>
2.1.1 Dentina.....	13
2.1.2 Adhesión .....	14
2.1.3 Fundamentos de la adhesión a la dentina .....	15
2.1.4 Permeabilidad de la dentina .....	16
<b>2.2 Mecanismos de adhesión a dentina</b> .....	<b>17</b>
2.2.1 Sistemas adhesivos .....	17
2.2.2 Clasificación de los adhesivos según su estrategia de adhesión.....	17
2.2.3 Grabado y enjuague.....	18
2.2.4 Autograbantes .....	19
2.2.5 Degradación de la interfaz adhesiva .....	20
2.2.6 Papel de las metaloproteinasas en la matriz de dentina .....	20
2.2.7 Inhibidores de metaloproteinasas .....	21
2.2.8 Flavonoides .....	23
2.2.9 Naringenina .....	23
2.2.10 Microfiltración .....	24
<b>3. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS</b> .....	<b>25</b>
<b>4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>29</b>
4.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	30
<b>5. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>31</b>
<b>6. HIPÓTESIS</b> .....	<b>33</b>
6.1 HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN .....	34
6.2 HIPÓTESIS NULA .....	34
<b>7. OBJETIVOS:</b> .....	<b>35</b>
7.1 OBJETIVO GENERAL.....	36
7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	36
<b>8. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>37</b>
8.1 Diseño del estudio .....	38
8.2 Muestra.....	38
8.3 Criterios de selección .....	38
8.3.1 Inclusión .....	38
8.3.2 Exclusión .....	38
8.3.3 Eliminación.....	38
8.4 Variables.....	39
8.5 Estandarización .....	40

8.6 Ubicación espacio-temporal .....	41
8.7 Procedimientos, técnicas y fuentes de recolección .....	42
8.8 Diagrama de flujo .....	50
8.9 Análisis estadístico.....	51
9. <i>ASPECTOS ÉTICOS</i> .....	52
11. <i>DISCUSIÓN</i> .....	59
12. <i>CONCLUSIÓN:</i> .....	64
13. <i>ALCANCES DEL ESTUDIO</i> .....	66
15. <i>BIBLIOGRAFIA</i> .....	74



## **1. INTRODUCCIÓN**

Con los avances en la odontología, se han creado materiales restauradores y técnicas que ofrecen características biológicas, estéticas y funcionales para satisfacer las necesidades del paciente. La obtención de un sellado efectivo en la interfase resina-dentina es uno de los desafíos existentes en el campo de la odontología restauradora, ya que esto permite una mayor duración de las restauraciones dentales. Se considera que la adhesión permite realizar restauraciones menos invasivas y conservadoras, lo cual viene relacionado con una serie de factores. Uno de ellos es el tipo de sustrato, como la dentina, que es una estructura histológicamente compleja y de composición variada.

El contenido mineral representa el 70% de la dentina humana, que corresponde al componente inorgánico, el 18% es de tipo orgánico y el 12% es agua (1). La parte inorgánica se compone principalmente de fosfatos de calcio en forma de cristales de hidroxiapatita, carbonatos, fluoruro y magnesio. Además, el colágeno tipo I forma la mayoría de la matriz orgánica, aunque hay una pequeña cantidad de proteínas no colágenas (2)

Debido a que el colágeno tipo I es responsable de las propiedades bioquímicas de la dentina y de la resistencia a la tracción, la matriz orgánica es crucial para los mecanismos de adhesión(3). Los factores extrínsecos como la saliva, la absorción de agua y la baja fotopolimerización pueden provocar fallos al realizar la adhesión dental. Las metaloproteinasas, que participan en el desarrollo de caries y dentición, se encuentran en la matriz de la dentina. Se ha demostrado que las metaloproteinasas de matriz (MMP) juegan un papel importante en los mecanismos de adhesión y en la separación de capas de unión (4).

El objetivo clínico de esta investigación sería utilizar inhibidores de MMP. Estos inhibidores tienen la capacidad de detener la descomposición del colágeno de la dentina dentro de las capas híbridas, lo que mejora la durabilidad de los mecanismos de adhesión de la dentina al material restaurativo. Esto tendrá un

impacto social, ya que previene la aparición de caries secundarias alrededor de las restauraciones (3)

La naringenina es un extracto de plantas cítricas, como las naranjas ácidas y el pomelo, que tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas. Es resistente a bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*. La naringenina se ha demostrado que actúa como inhibidor de *Quorum Sensing* (QS) durante la formación de biopelículas por bacterias Gram – y Gram +, lo que significa que podría ser utilizado como agente antimicrobiano en la odontología (5,6).

Para evitar la degradación de la capa híbrida, es esencial buscar el mejor inhibidor de las MMP. El objetivo de esta investigación fue evaluar la adhesión y la microfiltración inmediata y retardada de los sistemas de adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con y sin naringenina.

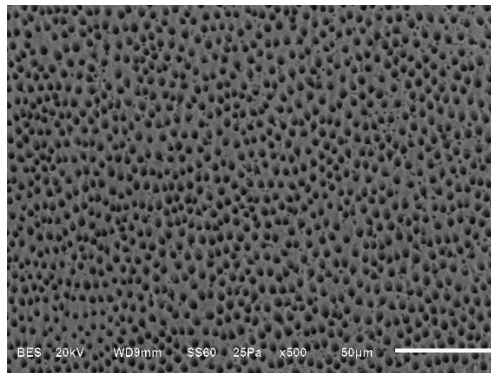
**PALABRAS CLAVE:** Adhesión, Metaloproteinasas, Flavonoides, Naringenina.

## **2. ANTECEDENTES**

## 2.1 ANTECEDENTES GENERALES

### 2.1.1 Dentina

La dentina es un tejido mineralizado que constituye la mayor parte de la estructura de un diente. Está compuesta principalmente por cristales de hidroxiapatita, que le dan resistencia y dureza. Sin embargo, la dentina también contiene componentes orgánicos como colágeno, proteoglicanos y glicoproteínas, que son los que le confieren su resistencia y elasticidad característica. La dentina se compone de túbulos dentinarios, que son pequeños canales microscópicos que se extienden desde la pulpa dental hasta la superficie externa de la dentina, cerca de la unión amelodentinaria. La disposición de los túbulos dentinarios varía en diferentes regiones de la dentina, siendo más densos en la dentina periférica y menos densos hacia la pulpa dental, (7–9) ver (Figura 1).



Cortesía Moyaho-Bernal

**Figura 1.** Morfología de dentina, se observan túbulos dentinarios (T), dentina intertubular (ID) y dentina peritubular. Aumento 500X.

Estos componentes orgánicos y morfología única son fundamentales en el proceso de adhesión dental, ya que interactúan con los materiales adhesivos para formar la capa híbrida, proporcionando una unión sólida entre la restauración dental y la estructura dentaria subyacente (10)

La dentina se origina embriológicamente a partir del mesénquima ectodérmico de la cresta neural durante el desarrollo embrionario. Durante la odontogénesis, las células mesenquimales se diferencian en odontoblastos, que son responsables de la formación de la dentina. Los odontoblastos secretan inicialmente una matriz extracelular rica en colágeno tipo I y proteoglicanos, que se mineraliza progresivamente con cristales de hidroxiapatita para formar la dentina (2)

Existen diferentes tipos de dentina que se forman durante el desarrollo dental y en respuesta a diversos estímulos. La dentina primaria se forma durante la etapa de desarrollo temprano y constituye la mayor parte de la dentina coronal y radicular. La dentina secundaria se deposita continuamente a lo largo de la vida del diente en respuesta a factores como el desgaste fisiológico o patológico, y es más densa que la dentina primaria. Además, la dentina terciaria se forma en áreas de la pulpa dental en respuesta a irritantes como caries o trauma, siendo más irregular y menos organizada que la dentina primaria y secundaria. Estas diferentes presentaciones de dentina reflejan la complejidad y la capacidad adaptativa del tejido dentinario durante el desarrollo y la respuesta a estímulos ambientales (11)

### **2.1.2 Adhesión**

Buonocore introdujo la idea de utilizar ácido fosfórico para condicionar la superficie del esmalte dental antes de aplicar materiales restauradores. Descubrió que, al grabar el esmalte con ácido fosfórico, se creaba una capa microscópica de microrretenciones que mejoraba la adhesión de los materiales a la superficie del diente. Este concepto inicial fue el punto de partida para el desarrollo de técnicas y materiales adhesivos más avanzados en las décadas siguientes. En la década de 1960, se introdujeron los primeros sistemas de adhesión dentinaria utilizando resinas y adhesivos (12).

La adhesión dental es un proceso que implica la aplicación de agentes adhesivos o cementos dentales en la superficie preparada del diente, que interactúan

químicamente con la dentina y/o el esmalte para formar una unión mecánica y química (13,14)

Inicia con la preparación de la superficie dental, eliminando la capa de barrillo dentinario y contaminantes para asegurar una superficie limpia. Luego, se aplica un agente acondicionador ácido para desmineralizar la capa superficial y crear microretenciones en la dentina o el esmalte. Después, se aplica un primer que se infiltra en los túbulos dentinarios, formando una capa híbrida y proporcionando una unión química y micromecánica. Posteriormente, se aplica el adhesivo que se polimeriza mediante luz visible, formando una unión fuerte con la superficie dental. Finalmente, se coloca el material restaurador sobre el adhesivo, completando el proceso de adhesión y restaurando la forma y función del diente afectado (15–17).

### **2.1.3 Fundamentos de la adhesión a la dentina**

En la década de 1970, se produjo un avance importante con la introducción de los sistemas adhesivos de grabado total, que permitían la adhesión tanto al esmalte como a la dentina mediante un único agente adhesivo. Esto mejoró significativamente la adhesión a la dentina y contribuyó al desarrollo de técnicas restauradoras más conservadoras y estéticas (2,16)

Uno de los principales inconvenientes de la adhesión a la dentina radica en la complejidad y variabilidad inherentes a este tejido dental. La dentina presenta una estructura morfológica heterogénea, con variaciones en la densidad de los túbulos dentinarios, la presencia de zonas de esclerosis dentinaria, la exposición de colágeno o la formación de caries, entre otros factores (18).

Estas variaciones pueden afectar la eficacia de la adhesión y generar resultados variables entre pacientes y dentro de un mismo diente. Además, la adhesión a la dentina húmeda presenta desafíos adicionales debido a la presencia de agua que puede interferir con la adhesión química y la penetración del adhesivo en los túbulos. Esto requiere el desarrollo de estrategias y técnicas específicas para abordar la dentina húmeda y maximizar la eficacia de la adhesión. Otro

inconveniente importante es la sensibilidad postoperatoria que algunos pacientes experimentan después de la colocación de restauraciones adhesivas. Esta sensibilidad puede estar relacionada con la exposición de los túbulos dentinarios durante el proceso de adhesión, lo que puede causar molestias al paciente y requerir medidas adicionales para su manejo (19,20)

Además, la degradación a largo plazo de la unión adhesiva es un problema importante, ya que los enlaces químicos entre el adhesivo y la dentina pueden experimentar hidrólisis con el tiempo, comprometiendo la integridad de la unión y aumentando el riesgo de caries secundarias. Otro inconveniente es la variabilidad en la estructura y composición de la dentina entre individuos y dentro de un mismo diente, lo que puede influir en la eficacia de la adhesión y requerir enfoques personalizados para cada caso clínico (21)

#### **2.1.4 Permeabilidad de la dentina**

Es otro aspecto importante a considerar en la adhesión dental. La dentina presenta una estructura altamente permeable debido a la presencia de los túbulos dentinarios. Estos permiten el paso de líquidos, solutos y microorganismos, lo que puede afectar la estabilidad y durabilidad de la adhesión dental. La permeabilidad de la dentina puede variar según factores como la densidad y diámetro de los túbulos, la edad del sujeto, la presencia de caries o áreas de esclerosis dentinaria. La alta permeabilidad de la dentina puede influir en la penetración y retención de los agentes adhesivos, así como en la posibilidad de que se produzca infiltración de fluidos o microfiltración a lo largo del tiempo. Por lo tanto, entender y abordar la permeabilidad de la dentina es fundamental para mejorar la calidad y longevidad de las restauraciones adhesivas en odontología (7,9,10,22,23)



## **2.2 Mecanismos de adhesión a dentina**

### **2.2.1 Sistemas adhesivos**

Los sistemas adhesivos en odontología son herramientas fundamentales para lograr una unión efectiva entre los materiales restauradores y la estructura dentaria. Generalmente incluyen componentes como el acondicionador ácido (por ejemplo, ácido fosfórico) para preparar la superficie dentinaria o del esmalte, el primer que se une químicamente a la superficie tratada y el adhesivo que proporciona la unión entre el material restaurador y la estructura dental. Estos sistemas adhesivos pueden clasificarse en diferentes generaciones según su composición y modo de aplicación, con avances continuos en la investigación y desarrollo para mejorar su eficacia, durabilidad y facilidad de uso (2,19,24,25)

La selección del sistema adhesivo adecuado depende de varios factores, como la condición de la superficie dental, el tipo de material restaurador y las preferencias clínicas del odontólogo, siendo crucial una adecuada aplicación y técnica para obtener resultados óptimos en las restauraciones dentales (19)

### **2.2.2 Clasificación de los adhesivos según su estrategia de adhesión**

La principal función de los sistemas adhesivos es lograr una interacción completa con el órgano dentario, lo que garantiza una fuerte adhesión con una buena adaptación marginal, lo que reduce la microfiltración de fluidos, bacterias entre las paredes de la preparación cavitaria y el material restaurador (26)

Los adhesivos dentales se clasifican según varios criterios, siendo uno de los más comunes la técnica de grabado utilizada en la preparación de la superficie dentaria (2,16)

Esta clasificación incluye:

- **Sistemas de grabado total:** Estos adhesivos utilizan ácido fosfórico para el grabado ácido del esmalte y la dentina, creando microrretenciones que mejoran la adhesión. Pueden ser de dos pasos, donde se aplica primero el acondicionador ácido y luego el adhesivo, o de un paso, donde el acondicionamiento ácido y la aplicación del adhesivo se realizan en una sola etapa.
- **Sistemas de autograbado:** Estos adhesivos simplifican el proceso al combinar el acondicionamiento ácido y la aplicación del adhesivo en un solo paso. Eliminan la necesidad de enjuagar y secar la superficie después del acondicionamiento ácido, lo que puede reducir el riesgo de contaminación y errores técnicos (2,16,19,24)

Otro criterio de clasificación se basa en la forma en que el agente adhesivo se presenta:

- **Sistemas de un frasco o monocomponentes:** Estos adhesivos combinan todos los componentes en una sola botella, lo que simplifica su aplicación pero puede resultar en una menor estabilidad química.
- **Sistemas de múltiples frascos o bicomponentes:** Estos adhesivos tienen componentes separados para el acondicionamiento ácido y la aplicación del adhesivo, lo que permite un mayor control y precisión en el proceso de adhesión, así como una mayor estabilidad química (2,16,19,24)

### 2.2.3 Grabado y enjuague

Los sistemas adhesivos de grabado total son una categoría de adhesivos dentales que se utilizan para la adhesión tanto al esmalte como a la dentina mediante el uso de ácido fosfórico u otro agente de grabado. Estos sistemas se dividen en sistemas de dos pasos y sistemas de un paso, dependiendo de la cantidad de etapas requeridas para su aplicación (16)

En el caso de los sistemas de dos pasos, el primer paso implica el acondicionamiento ácido de la superficie dentaria con ácido fosfórico al 37% durante un tiempo específico, generalmente entre 15 y 30 segundos. Este ácido desmineraliza la capa superficial del esmalte y la dentina, creando micro retenciones y aumentando la superficie de unión para el adhesivo. Después de enjuagar y secar la superficie, se aplica el agente adhesivo que se infiltrará en los túbulos dentinarios desmineralizados y formará una capa híbrida con la dentina para finalmente polimerizar el adhesivo (2,7,17,27)

#### **2.2.4 Autograbantes**

Los sistemas adhesivos autograbantes son una categoría de adhesivos dentales diseñados para simplificar el proceso de adhesión al combinar el acondicionamiento ácido y la aplicación del adhesivo en un solo paso. Estos sistemas utilizan agentes adhesivos que contienen monómeros ácidos que pueden infiltrarse y reaccionar con la superficie dentaria sin necesidad de un agente acondicionador ácido previo. Esta reacción química permite la formación de una capa híbrida y la unión micromecánica con la dentina desmineralizada (2)

Se han desarrollado con el objetivo de reducir el riesgo de contaminación, simplificar el procedimiento clínico y mejorar la predictibilidad de la adhesión dental. Sin embargo, existen debates en la literatura científica sobre la eficacia y durabilidad de estos sistemas en comparación con los sistemas de grabado total tradicionales. Algunos estudios han demostrado que los adhesivos autograbantes pueden presentar una menor resistencia de unión a largo plazo y una mayor susceptibilidad a la degradación por hidrólisis de los enlaces químicos (16)

La investigación continua en el campo de los sistemas adhesivos autograbantes se centra en mejorar su rendimiento clínico mediante el desarrollo de formulaciones más estables, la optimización de las técnicas de aplicación y la evaluación de su

comportamiento en condiciones clínicas realistas. Los estudios clínicos y de laboratorio son fundamentales para comprender a fondo la eficacia y las limitaciones de estos sistemas, así como para proporcionar evidencia científica sólida que guíe su uso clínico de manera segura y efectiva en la práctica odontológica (28)

### **2.2.5 Degradación de la interfaz adhesiva**

La degradación de la capa híbrida es un fenómeno complejo que involucra la ruptura de las uniones químicas y mecánicas entre el material adhesivo y la estructura dentinaria, resultando en la disminución de la resistencia de la unión y la infiltración de fluidos y bacterias. Este proceso puede ser influenciado por diversos factores, como la actividad enzimática de las metaloproteinasas de matriz dentinaria, la exposición a factores ambientales como la humedad y la temperatura, así como la calidad y estabilidad del material adhesivo utilizado (29)

La evaluación de la degradación de la capa híbrida es fundamental en la investigación y desarrollo de nuevos sistemas adhesivos, ya que permite comprender los mecanismos de falla y diseñar estrategias para mejorar la estabilidad y durabilidad de las restauraciones adhesivas en odontología. Los estudios *in vitro* e *in vivo* son utilizados para investigar la influencia de diferentes factores en la degradación de la capa híbrida y para evaluar la eficacia de medidas de protección y refuerzo de la unión adhesiva (19,24)

### **2.2.6 Papel de las metaloproteinasas en la matriz de dentina**

Las metaloproteinasas de matriz (MMP) son enzimas proteolíticas que desempeñan un papel clave en la remodelación y degradación de la matriz extracelular en tejidos como la dentina. Estas enzimas están involucradas en procesos fisiológicos como la reparación tisular, pero también pueden contribuir a la degradación patológica de la matriz en condiciones como la caries o la enfermedad periodontal (30–32)

En el contexto de la adhesión dental, las MMPs son especialmente relevantes debido a su capacidad para degradar las fibras de colágeno expuestas en la dentina desmineralizada durante el proceso de adhesión. Las MMPs más estudiadas en este contexto son la MMP-2 (gelatinasa A) y la MMP-9 (gelatinasa B), que son capaces de romper los enlaces peptídicos de las fibras de colágeno tipo I y IV presentes en la dentina (33)

La actividad de las MMPs puede ser influenciada por diversos factores, como la inflamación, la presencia de bacterias cariogénicas, la exposición a estímulos mecánicos y la interacción con productos químicos presentes en los materiales adhesivos. La liberación de MMPs en la interfaz adhesiva puede comprometer la integridad de la capa híbrida y conducir a la infiltración de fluidos y bacterias, lo que puede resultar en la aparición de caries secundarias y la pérdida de la unión adhesiva a largo plazo (31,34)

La comprensión de la actividad y regulación de las MMPs en la interfaz adhesiva es fundamental para el desarrollo de estrategias que minimicen su impacto negativo en la durabilidad de las restauraciones adhesivas en odontología. Esto incluye el uso de inhibidores de MMPs en los sistemas adhesivos, la modulación de la actividad enzimática mediante el diseño de materiales adhesivos más estables y la investigación de terapias que promuevan la regeneración y protección de la matriz dentinaria en presencia de MMPs activas (24,28,34,35)

### **2.2.7 Inhibidores de metaloproteinasas**

Se dividen en dos tipos:

- **Exógenos:** La inhibición de MMP por sustancias sintéticas naturales en gel y / o enjuague bucal podría proporcionar una vía terapéutica potencial para evitar la progresión de la caries en la dentina, lo que facilita los procesos de remineralización o prolongación de la longevidad de las restauraciones dentales (36)

- **Endógenos:** Se reconocen cuatro TIMP (TIMP-1 a TIMP-4), y todas son proteínas secretadas que forman complejos con MMP, lo que inhibe las formas activas de todas las MMP. TIMP-1, TIMP2 y TIMP-4 se encuentran en la superficie celular en estrecha asociación con proteínas unidas a la membrana (36)

La clorhexidina ha demostrado ser efectiva en la reducción de la actividad de las MMPs en la interfaz adhesiva, lo que resulta en una menor degradación de la capa híbrida y una mayor estabilidad de la unión adhesiva. Esto se debe a su capacidad para interferir con el proceso de activación y actividad enzimática de las MMPs, impidiendo así la degradación de las fibras de colágeno y la separación de la capa híbrida del sustrato dentinario (37)

Además de su acción como inhibidor de MMPs, la clorhexidina también posee propiedades antimicrobianas que ayudan a controlar la colonización bacteriana en la interfaz adhesiva y prevenir la formación de biopelículas que podrían comprometer la integridad de la unión adhesiva a largo plazo (38).

El uso de la clorhexidina como inhibidor de MMPs en sistemas adhesivos ha demostrado beneficios significativos en términos de mejorar la resistencia de la unión adhesiva, reducir la incidencia de caries secundarias y aumentar la longevidad de las restauraciones adhesivas en odontología. Sin embargo, es importante considerar la dosificación y aplicación adecuadas de la clorhexidina para evitar efectos adversos como la disminución de la adhesión o la alteración de las propiedades físicas del material adhesivo (39,40)

Además, puede utilizarse como solución de imprimación antiproteolítica aplicada directamente a la dentina después del grabado ácido, o incorporada al agente de grabado ácido o bien dentro de la composición del sistema adhesivo (41)

### **2.2.8 Flavonoides**

Son un grupo de compuestos polifenólicos que tienen beneficios para la salud debido a su actividad antioxidante (42) Se encuentran principalmente en la fruta, granos, verduras, flores, té, vino y tallos (43) Son generalmente compuestos solubles en agua. Se ha comprobado que tienen efectos antiinflamatorios, antialérgicos, anticancerígenas, hepatotóxicos y anticancerígenas (44)

Gracias a la estructura de los flavonoides y los grupos hidroxilo fenólicos de los flavonoides cítricos pueden actuar en los sitios catalíticos o alostéricos de las enzimas a través del enlace hidrofílico o hidrofóbico, inactivando las MMP directamente. Existen proteínas no colágenas como la sialoproteína ósea SIBLINGs, proteína de la matriz de dentina- 1 (DMP-1) y Fenituina A que pueden proteger las actividades de las MMPs, los flavonoides pueden inactivar esas proteínas a través de interacciones hidrófilas o hidrófobas con sus dominios funcionales y silenciar las MMPs (45).

### **2.2.9 Naringenina**

Es una flavonona primaria, presente en la naranja, tomates, pomelos, mandarina, cáscara de limón y de la lima, pero principalmente se encuentra en la toronja. Este flavonoide ha sido de interés debido a su variedad en ciertas propiedades farmacológicas (44) Se ha demostrado que tiene un efecto inhibitor sobre osteoclastos y la reabsorción ósea (46) Además se ha documentado experimentalmente que posee numerosas propiedades biológicas como actividades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas (47)

Se ha demostrado que la naringenina actúa como inhibidor de Quórum Sensing (QS) durante la formación de biopelículas por bacterias Gram – y Gram +, por ende, se concluye que este bioflavonoide puede ser utilizado como agente antimicrobiano en la odontología (48)

### **2.2.10 Microfiltración**

Es un fenómeno que se refiere a la penetración de fluidos, solutos y microorganismos a través de la interfaz entre el material restaurador y la estructura dentinaria o del esmalte. Este proceso puede ocurrir debido a la presencia de pequeñas discontinuidades, porosidades o fallas en la unión adhesiva, así como a la degradación de la capa híbrida y la infiltración de enzimas como las metaloproteinasas de matriz (MMPs) (29)

La microfiltración puede tener consecuencias negativas en las restauraciones adhesivas, ya que puede resultar en la acumulación de bacterias y la infiltración de fluidos que pueden provocar la formación de caries secundarias, la desmineralización de la dentina subyacente y la eventual pérdida de la unión adhesiva. Además, la microfiltración puede comprometer la estética de la restauración al permitir la entrada de pigmentos y cambios de color en el material adhesivo (49,50)

El control de la microfiltración es un objetivo importante en el diseño y desarrollo de sistemas adhesivos en odontología. Se han propuesto diversas estrategias para reducir la microfiltración, como el uso de agentes selladores o recubrimientos protectores en la interfaz adhesiva, la optimización de las técnicas de aplicación y polimerización del adhesivo, y el uso de inhibidores de enzimas como las MMPs para preservar la integridad de la capa híbrida. La investigación continua en este campo busca identificar y abordar los factores que contribuyen a la microfiltración, con el objetivo de mejorar la durabilidad y estabilidad de las restauraciones adhesivas en odontología (29,50,51).



### **3. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS**

Ometto (52) y cols., en el 2023 evaluaron la fuerza de union microntesil al utilizar 2 flavonoides como acondicionadores dentinarios. Utilizaron naringenina, una flavonona precursora de la naringenina, y kaempferol, un flavonol, en diferentes concentraciones (10mM y 20 mM) y en distintos tiempos (30 segundos y 60 segundos). Se utilizaron un total de 88 muestras divididas en 11 grupos (n=8) que, una vez realizado el montaje de la resina, fueron seccionados para evaluarlas 24 hrs. después de la colocación del acondicionador y un año después de estar sometidas a envejecimiento artificial. Además, se evaluaron los modos de falla con microscopio electrónico de barrido y se observó la morfología de la interfase adhesivo dentina con microscopio confocal de barrido láser. Tras realizar el análisis estadístico, se demostró que en los grupos experimentales que se aplicó por 60 segundos el acondicionador, estas mejoraron la fuerza de union microntensil después de un año y también el grupo de kaempferol aplicado durante 30 segundos. Ninguno de los acondicionadores experimentales utilizados interfirió con la interfase adhesiva ni con el modo de fallo. Por lo cual concluyeron que la efectividad de los acondicionadores puede estar relacionada con el tiempo de aplicación en dentina, ya que se observaron mejores resultados en los grupos en los cuales se aplicó durante 60 segundos.

Rong Wang (53) y cols., en el 2022 realizaron un análisis cuantitativo y cualitativo mediante espectroscopia de infrarrojos por transformada de fourier para evaluar la estabilización del colágeno dentinario después de la colocación de protoantocianidinas tipo A y tipo B, y epigallocatequina 3-galato. Se prepararon dos disoluciones: una de solución salina como grupo control y otra con alcohol etílico al 10%. Después se utilizaron concentraciones de 0.65% y 1.3% de cada flavonoide para disolver en la segunda solución. Se extrajeron 12 terceros molares sin caries a los cuales se le removieron las raíces 3 mm debajo de la unión cemento-esmalte y se montaron en un bloque de aluminio para remover el esmalte. Después fueron seccionadas en laminillas de 10 µm de grosor utilizando un microtomo. Se formaron 6 grupos (n=10) para la fase experimental. Concluyeron que el tratamiento con flavonoides para la estabilización del colágeno después de la colocación del ácido

grabador provee protección contra la degradación enzimática al ser utilizados por 30 segundos.

Yong Wang (54) y cols., en el 2021 evaluaron al extracto de semilla de uva (ESU), extracto de té verde (ETV), extracto de jugo de arandano (EJA), al 3-dimetilaminopropil carbodiimida en combinación con N-hidroxisuccinimida y su interacción con el colágeno dentinario, resistencia a la degradación y actividad de metaloproteinasas de matriz (MPM's) endógenas como lo son la MPM-2 y MPM-9. Se obtuvieron laminillas de dentina de 10  $\mu\text{m}$  de grosor de terceros molares que se dividieron en 6 grupos (n=10). Se realizó un análisis con espectroscopia infrarroja por transformada de fourier para determinar la presencia de los diferentes reactivos en el colágeno dentinario; se llevó a cabo la medición de masa perdida para evaluar la degradación del colágeno ante una colagenasa y cuantificación de la liberación de hidroxiprolina. Además se observaron las muestras en microscopio electrónico de barrido (MEB) y de transmisión (MET). Concluyeron que todos los grupos experimentales mostraron mejoría en la estabilidad del colágeno dentinario al ser más resistentes a la degradación de la colagenasa bacteriana, siendo el grupo del EJA el que mejores resultados presentó, que a su vez se correlacionaba con lo observado en el MEB y MET.

Zhengya Liu (55) y cols., en el 2017 evaluaron la habilidad de los flavonoides Hesperetina (Hst), Hesperedina (Hsd) y Naringenina (Nge) y la Clohexidina (Chx), como grupo control, para inhibir a las metaloproteinasas de matriz (MPMs). Se realizó un estudio fluorométrico para evaluar los efectos inhibitorios de los flavonoides, estudio de masa perdida y liberación de hidroxiprolina para determinar la actividad de las MPMs. Para estos experimentos se utilizaron varillas de dentina desmineralizada los cuales fueron tratadas por 10 minutos con flavonoides. Además se utilizaron laminillas de dentina para zimografía *in situ* y fueron observadas mediante microscopia confocal para determinar la actividad y localización de la MPMs. Concluyeron que la inactivación de los MPMs es dependiente de la concentración del flavonoide siendo 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  la más recomendada. A

comparación del grupo control, las varillas de dentina pretratadas con flavonoides mostraron la menor cantidad de masa perdida y liberación de hidroxiprolina y arquitectura intacta del colágeno después de 15 días de almacenamiento. Además, exhibieron una actividad enzimática menor.

Yang Liu (56) y cols., en el 2014 investigaron el uso del ácido fosfórico añadido con extracto de semilla de uva (ESU) en concentraciones del 5%, 10% y 20% para contrarrestar la degradación de las fibrillas de colágeno al ser expuestas a una colagenasa de origen bacteriano. Además se preparó ácido grabador a distintas concentraciones (5%, 10% y 20%). Se utilizaron 16 terceros molares sin caries para la experimentación los cuales fueron seccionados en laminillas de 6  $\mu\text{m}$  de grosor por lo cual se obtuvieron 50 muestras de cada molar y se contemplaron 300 laminillas para lo cual seleccionaron 30 laminillas al azar y separarlas en 6 grupos ( $n=5$ ). Se realizó un estudio mediante espectroscopia de infrarrojos mediante transformada de fourier para establecer la presencia del flavonoide al momento del grabado ácido y después de la exposición a la colagenasa, y espectroscopia micro-Raman para determinar la profundidad del grabado ácido. Concluyeron que implementar el ESU a cualquier concentración utilizada en el estudio, inhibe la degradación del colágeno ante la colagenasa bacteriana y se recomienda el uso del ácido grabador en una concentración menor a 20% añadido con al menos 5% de ESU.

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las MMP en la matriz de dentina destruyen las fibrillas de colágeno durante la progresión de la caries. Estos se activan en un entorno ácido producido por el ácido grabador o el ácido láctico secretado por las bacterias patógenas orales. Las MMP también están involucradas en la degradación hidrolítica de la matriz de dentina expuesta, lo que puede reducir la resistencia durante los procedimientos de adhesión de la capa híbrida.

Las restauraciones directas de resina con microfiltración marginal pueden causar sensibilidad inmediatamente después del procedimiento, y si no se controla, puede causar hipersensibilidad crónica, caries recurrentes y patología pulpar debido a la falta de sellado adecuado. Esto puede comprometer la longevidad de la restauración y obligar a los pacientes a visitar al dentista en repetidas ocasiones.

Recientemente, se han investigado distintos inhibidores de MMP. Sin embargo, se ha reportado que algunos pueden llegar a causar reacciones inflamatorias, necrosis tisular y baja resistencia a la adhesión.

#### **4.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Existe diferencia entre la adhesión y microfiltración inmediata y retardada del sistema adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con y sin naringenina?

## **5. JUSTIFICACIÓN**

Utilizar inhibidores de la MMP durante el proceso de adhesión de la dentina es beneficioso porque tienen la capacidad de detener la descomposición del colágeno de la dentina dentro de las capas híbridas. También son una opción razonable para prolongar la vida útil de las restauraciones adhesivas, lo que evita el reemplazo temprano..

Como resultado, esto tendría un impacto en los mecanismos de adhesión de la dentina, lo que permitiría el uso de sustancias de origen natural para mejorar la preparación de la parte orgánica de la dentina para que sea más adhesiva..

Dado que el uso de sustancias de origen natural en la adhesión es un tema que aún no se ha estudiado adecuadamente, los hallazgos de esta investigación también podrán servir como base para investigaciones futuras. Además, se obtendrán precedentes que funcionen para corregir el protocolo de adhesión en la práctica clínica.



## **6. HIPÓTESIS**

## **6.1 HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN**

- La adhesión y microfiltración inmediata del sistema adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con naringenina es mejor que la que no se encuentra con acondicionamiento.
- La adhesión y microfiltración retardada del sistema adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con naringenina es mejor que la que no se encuentra con acondicionamiento.

## **6.2 HIPÓTESIS NULA**

- La adhesión y microfiltración inmediata del sistema adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con naringenina es igual que la que no se encuentra con acondicionamiento.
- La adhesión y microfiltración retardada del sistema adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con naringenina es igual que la que no se encuentra con acondicionamiento.

## **7. OBJETIVOS:**

## **7.1 OBJETIVO GENERAL**

Comparar la adhesión y microfiltración inmediata y retardada del sistema adhesivo de grabado y enjuague en dentina acondicionada con y sin naringenina.

## **7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar la fuerza de adhesión del sistema adhesivo de grabado y enjuague mediante el empleo de la Máquina Universal de Pruebas.

Clasificar el grado de microfiltración después de las pruebas de adhesión mediante el uso del Microscopio Óptico.

## **8. MATERIALES Y MÉTODOS**

## **8.1 Diseño del estudio**

Experimental, *in vitro*

## **8.2 Muestra**

- Muestreo no probabilístico por conveniencia.

## **8.3 Criterios de selección**

### **8.3.1 Inclusión**

Terceros molares sanos, corona anatómica completa, órganos dentarios de pacientes que firmen el consentimiento informado.

### **8.3.2 Exclusión**

Terceros molares con más de 6 meses de almacenamiento y dientes que estructuralmente se encuentran dañados en dentina.

### **8.3.3 Eliminación**

Muestras que presenten algún daño durante su preparación y que se desprenda el material de restauración antes de las maniobras.

## 8.4 Variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala y categoría	Tratamiento estadístico
<b>Independiente</b>				
<b>Acondicionamiento dentinario</b>	Alteración de la superficie de la dentina incluida la capa de barrillo dentinario con el objetivo de crear un sustrato capaz de unirse tanto micromecánicamente como químicamente a un adhesivo.	Se utilizó naringenina en aquellos grupos donde este indicado el acondicionamiento dentinario inmediato y retardado.	Cualitativa, Nominal, dicotómica  Si/No Naringenina	N/A
<b>Dependiente</b>				
<b>Interfase entre dentina y material de restauración</b>	Espacio que separa la dentina del material de restauración.	Se describió las características que se observen en la interfase entre la dentina y material de restauración.	Cualitativa	N/A
<b>Fuerza de adhesión</b>	Unión íntima entre dos superficies de diferente naturaleza química gracias a fuerzas interfaciales.	Se evaluó la fuerza de adhesión mediante el uso de la Máquina Universal de Pruebas.	Cuantitativa MPa	ANOVA
<b>Microfiltración</b>	Es el paso clínicamente indetectable de fluidos, bacterias, moléculas o iones entre un material de restauración y el sustrato dental.	Se evaluó el grado de microfiltración del pigmento de todos los grupos	Ordinal <b>0:</b> No penetración. <b>1:</b> Penetración en la pared axial de la cavidad <b>2:</b> Penetración incluyendo el piso pulpar de la cavidad.	Descriptivo

## **8.5 Estandarización**

Se realizó un estudio piloto con la finalidad de realizar ajustes en la técnica, así como para estandarizar los parámetros de evaluación para la adhesión y microfiltración por parte del investigador principal.



## **8.6 Ubicación espacio-temporal**

- Laboratorio de materiales y biomateriales de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (FEBUAP).
- Laboratorio de la Especialidad de Prostodoncia del Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara (U de G).

## **8.7 Procedimientos, técnicas y fuentes de recolección**

### **Preparación de la muestra**

Se seleccionaron 95 terceros molares humanos maxilares y mandibulares libres de caries de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión que fueron establecidos, bajo consentimiento informado por parte de los pacientes que deseen donar sus dientes **(ANEXO 1)**.

Se realizó la limpieza de los molares con una gasa para eliminación de tejido residual. Los dientes fueron almacenados en Timol inmediatamente después de la extracción durante 1 semana y después se almacenaron en agua potable, en un periodo no mayor a 6 meses conforme a la Norma ISO11405:2015 **(ANEXO 2)**.

### **Conformación de los grupos**

Se seleccionaron 45 dientes con los cuales se formaron 5 grupos, que fueron etiquetados de la siguiente manera para evaluar la microfiltración:

- Grupo 1: (n=8) Clorhexidina (control).
- Grupo 2: (n=8) Microfiltración inmediata sin acondicionamiento con naringenina.
- Grupo 3: (n=8) Microfiltración inmediata con acondicionamiento con naringenina.
- Grupo 4: (n=8) Microfiltración retardada sin acondicionamiento con naringenina.
- Grupo 5: (n=8) Microfiltración retardada con acondicionamiento con naringenina.

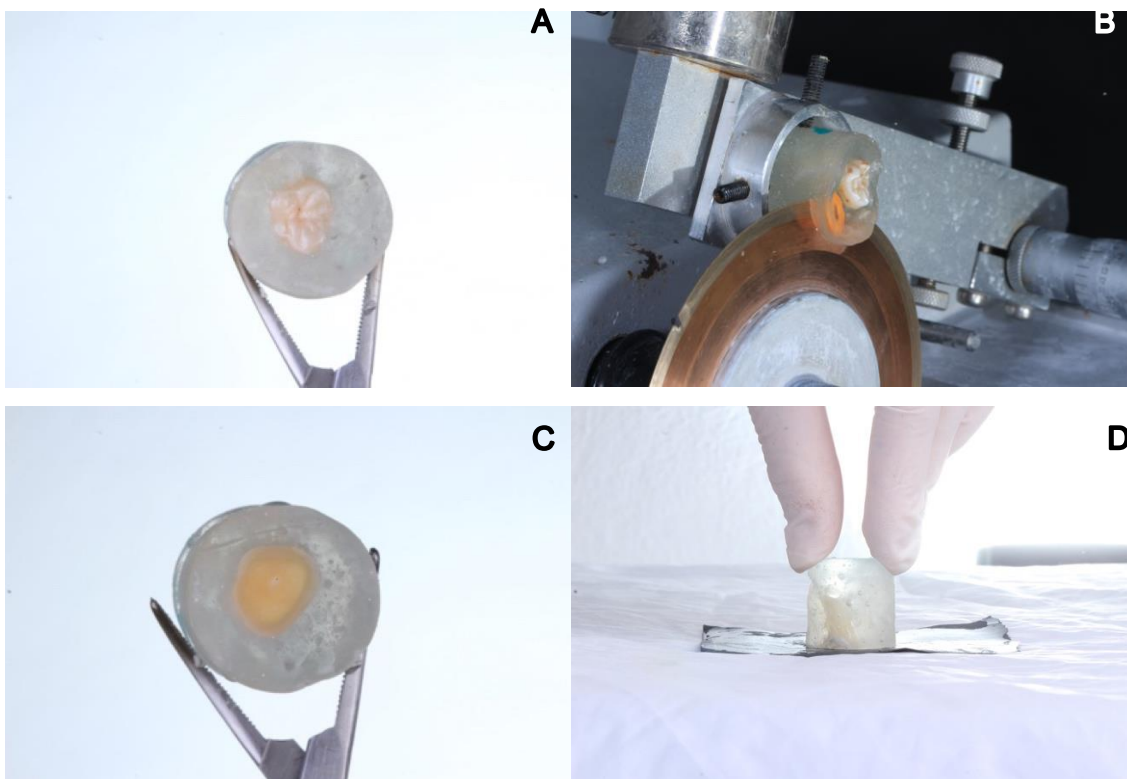
La cantidad excedente de dientes se dividió a su vez de la siguiente manera para evaluar fuerza de adhesión.

- Grupo 1: (n=10) Clorhexidina (control).
- Grupo 2: (n=10) Fuerza de adhesión inmediata sin acondicionamiento con naringenina.
- Grupo 3: (n=10) Fuerza de adhesión inmediata con acondicionamiento con naringenina.

- Grupo 4: (n=10) Fuerza de adhesión retardada sin acondicionamiento con naringenina.
- Grupo 5: (n=10) Fuerza de adhesión retardada con acondicionamiento con naringenina.

### **Fuerza de Adhesión**

Las preparaciones para aquellos grupos que recibieron las pruebas de adhesión inmediata y retardada, se realizó el corte perpendicular al eje longitudinal del diente a nivel del tercio medio para la eliminación del esmalte y para exposición de la dentina con el empleo de un disco de diamante de baja velocidad (Isomet Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) bajo corriente de agua. La superficie oclusal expuesta de la dentina media coronal se pulió con papel abrasivo de carburo de silicio de 400 granos bajo corriente de agua por 1 minuto para formar una capa uniforme de lodillo dentinario, ver (Figuras A- D).



Fuente propia

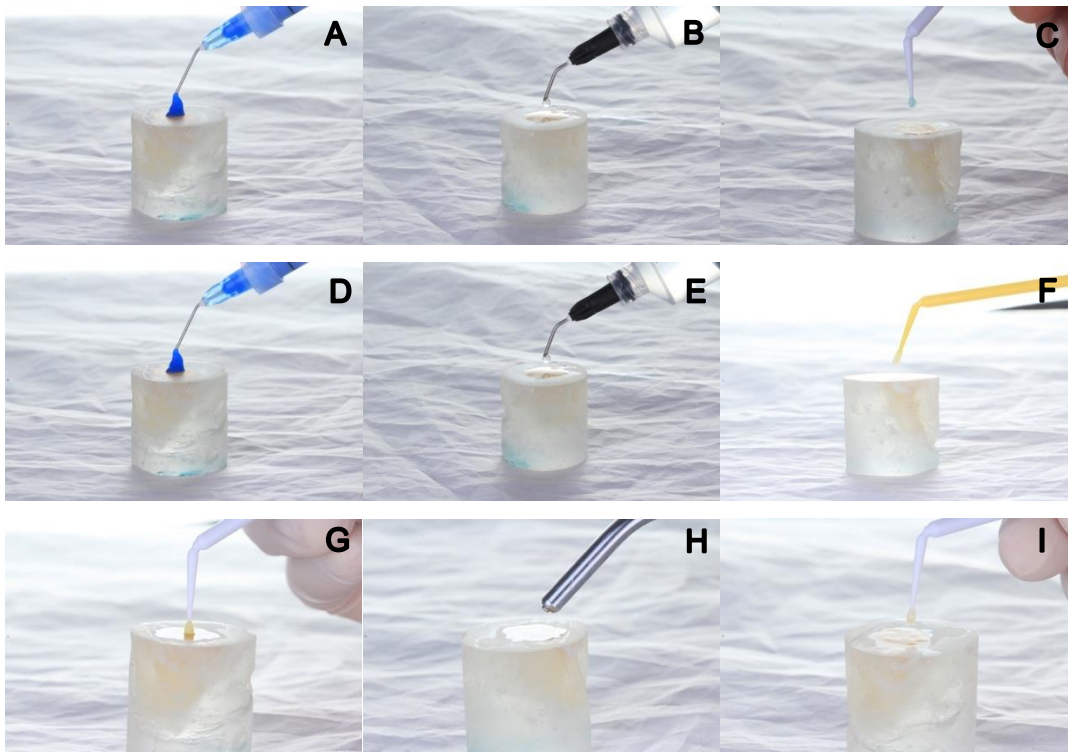
Figura 2. A) Montaje de la muestra. B) Corte perpendicular al eje longitudinal de la muestra. C) Vista coronal. D) Simulación de barrillo dentinario en papel abrasivo.

### **Acondicionamiento de las muestras**

Para el grupo control en el que se aplicó la Clorhexidina al 2% (Consepsis, Ultradent.) se colocó a la superficie dentinaria frotando durante 20 segundos el exceso de solución se removió con papel absorbente.

Aquellos grupos que recibieron acondicionamiento con Naringenina (Sigma-Aldrich; St Louis, MO, USA) al 0.5% se colocó el flavonoide Naringenina frotando durante 20 segundos, se eliminó el excedente con papel absorbente.

Posteriormente en todos los grupos, se colocó el Primer a la superficie de la dentina durante 20 segundos, se aplicará aire con la jeringa triple a una distancia de 20mm de la superficie de la dentina para evaporar los solventes, después se colocó el adhesivo de grabado y enjuague Optibond FL (Kerr), durante 20 segundos y se fotopolimerizó con el empleo de una lámpara Blue phase (Ivoclar, Vivadent), ver (Figura 3 A- I).



Fuente propia

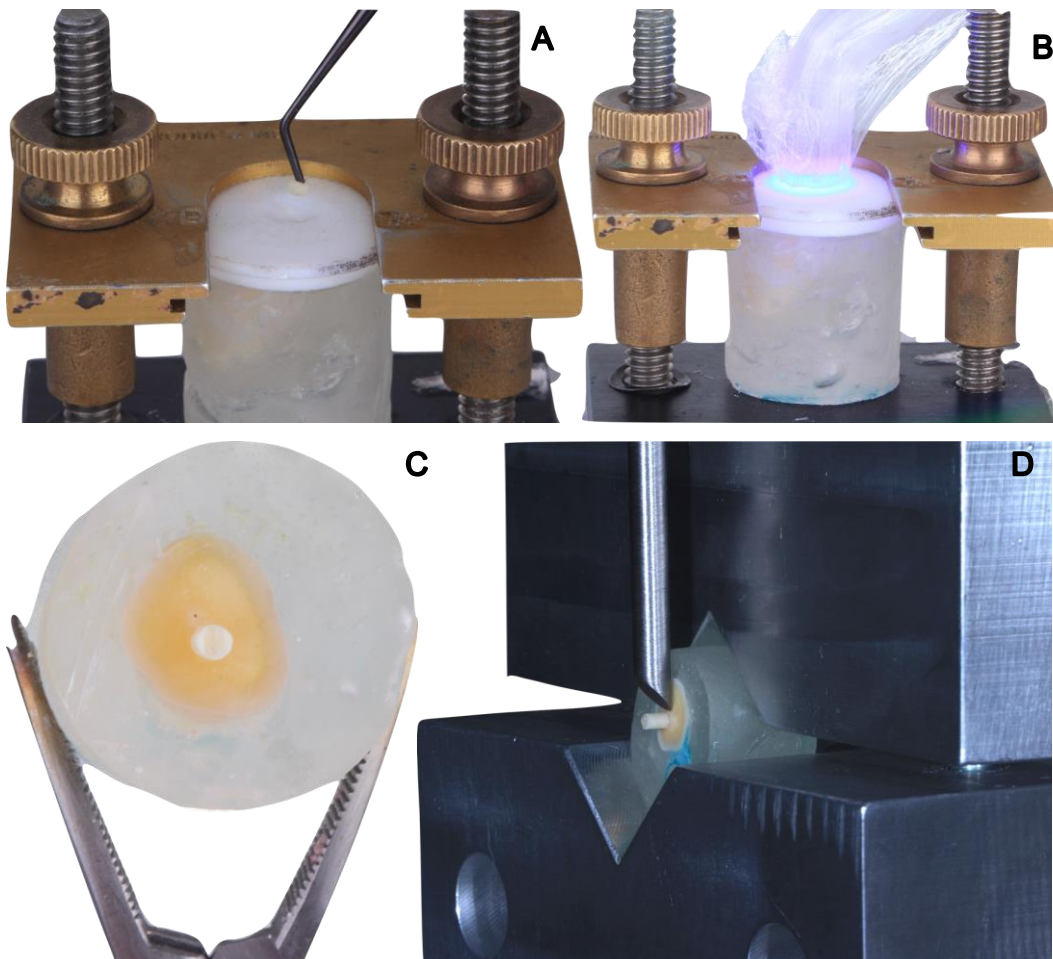
Figura 3. Acondicionamiento para la prueba de fuerza de adhesión.

### **Colocación del composite de resina (Fuerza de Adhesión)**

Se utilizó la prensa de montaje de resina de la marca Ultradent® en la cual se puso en contacto en el centro de la muestra y se polimerizó la resina cada incremento de 2 mm, ver (Figura 4).

### **Máquina Universal de Pruebas**

La prueba de fuerza de adhesión se determinó según la norma ISO/TS 11405:2003 con el uso de una Máquina Universal de Pruebas (Zwick 010, Ulm, Alemania). A una velocidad de cruceta de 0.75mm/ min. Se colocó una barra en forma de cincel a una distancia de 200µm paralela al diente en la interfaz sustrato – adhesivo, ver (Figura 4 A-D)

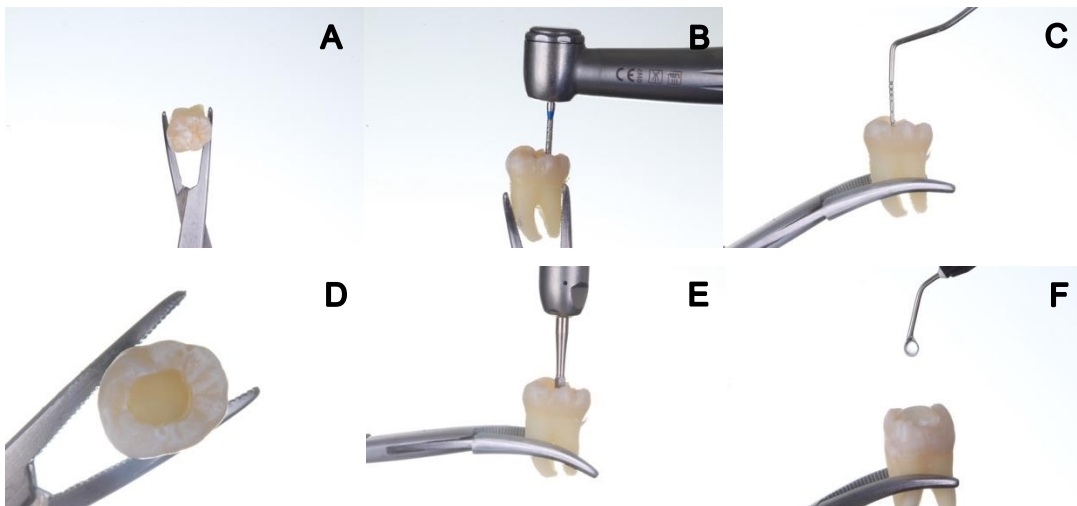


Fuente propia

Figura 4. Proceso de colocación de la resina y montaje en maquina universal de pruebas.

### **Microfiltración**

Para aquellos grupos recibieron la microfiltración inmediata y retardada se realizaron cavidades en la cara oclusal de 4 mm de ancho y 3 mm de profundidad con una fresa de diamante hasta establecer la cavidad con las dimensiones establecidas. Después, se utilizó una fresa de fisura de carburo con extremo plano y sin cortes transversales para eliminar irregularidades en las paredes de la cavidad, estas fresas fueron reemplazadas cada 5 preparaciones de acuerdo a la Norma ISO 3823-1:1997. Se usó una pieza de mano de alta velocidad a aproximadamente 4000 rpm con abundante irrigación de agua, ver (Figuras 5 A-F).

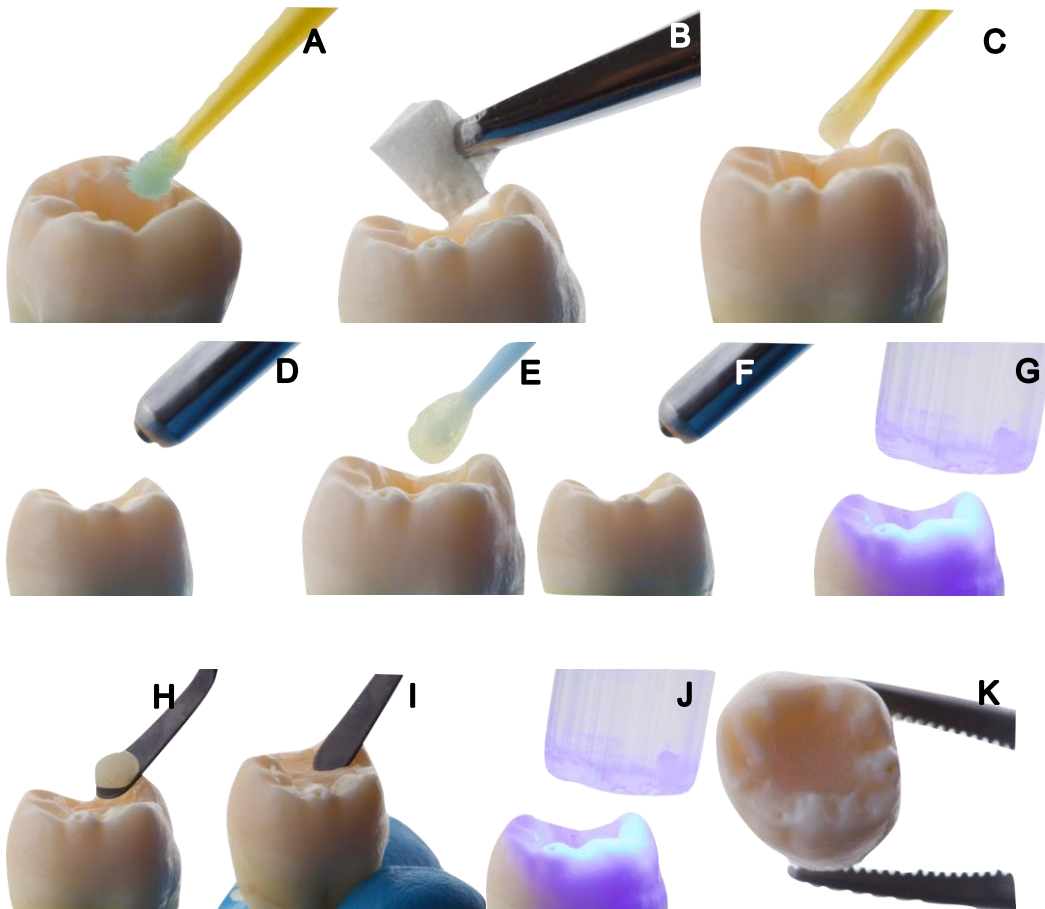


Fuente propia

Figura 5. Preparación de la muestras para la microfiltración. A) Vista coronal de tercer molar. B) Apertura inicial con fresa de diamante. C) Verificación de la profundidad de la cavidad. D) Vista coronal después de apertura inicial. E) Eliminación de irregularidades de la cavidad con fresa de carburo. F) Irrigación para eliminar restos de dentina.

### **Colocación del composite de resina (Microfiltración)**

Se colocó por incrementos de 1 mm (composite de resina Z350 XT, 3M) y se fotopolimerizó entre cada incremento durante 20 segundos, hasta conformar una altura de 5 mm, ver (Figuras 6 A-K).



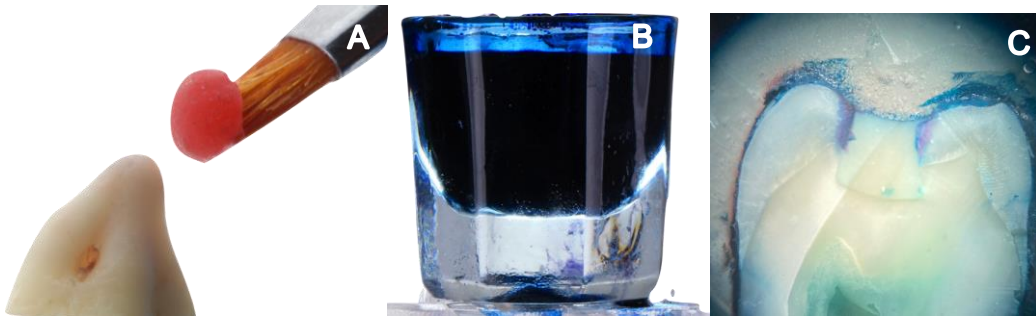
Fuente propia

Figura 6. Proceso de colocación de la resina en las cavidades para la microfiltración.

A) Aplicación de clorhexidina al 2% para el grupo control. B) Eliminación de excedentes. C) Aplicación del primer. D) Eliminación del solvente mediante aire a presión. E) Aplicación del adhesivo. F) Eliminación del solvente mediante aire a presión. G) Fotopolimerización del sistema adhesivo. H) Colocación de la resina compuesta. I) Obturación de la cavidad. J) Fotopolimerización de la resina compuesta. K) Vista oclusal de la muestra una vez obturada.

### **Preparación para el colorante**

Se colocó Pattern Resin (GC America Inc) en el ápice de la raíz para el sellado apical y evitar la penetración del colorante. Luego se recubrió la muestra con dos capas de esmalte de uñas de secado rápido, aplicado 1 mm por debajo de la interfase dentina-resina. 24 horas después de la colocación de la resina, se sumergieron en azul de metileno por un periodo de entre 2-4 horas. Se limpió el excedente del colorante y se realizó un montaje de manera que al realizar el corte fuera paralelo al eje longitudinal del diente con el empleo de un disco de diamante de baja velocidad (Isomet Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) bajo corriente de agua, ver (Figuras 7 A-C).



Fuente propia

Figura 7. Proceso de preparación para el colorante. A) Colocación de pattern resin en el ápice para evitar filtración. B) Azul de metileno. C) Fotografía obtenida de microscopio óptico de las pruebas piloto.

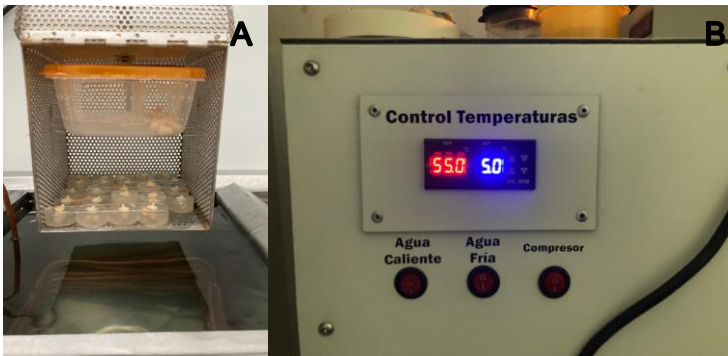
### **Evaluación de la microfiltración**

Las muestras fueron evaluadas mediante el microscopio óptico bajo la siguiente clasificación: 0: No penetración, 1: Penetración hasta la pared axial de la cavidad, pero no incluye el piso pulpar de la cavidad. 2: Penetración incluyendo el piso pulpar de la cavidad. De acuerdo a la Norma ISO11405:2015 (**ANEXO 2**).



## Termociclaje

Para aquellos grupos en los que se midió la fuerza de adhesión y microfiltración retardada, se utilizó el termociclado como una prueba de envejecimiento acelerado de los dientes hidrolíticamente durante 500 ciclos pasando de una temperatura de 5° a 55° de manera controlada con termómetros específicos para temperaturas altas y bajas. La exposición a cada baño fue de 20 segundos y el tiempo de transferencia entre baños fue de 10 segundos. Para las pruebas de microfiltración después del termociclaje se sumergió el diente en la solución trazadora terminando el envejecimiento, esto de acuerdo con el régimen que propone la Norma ISO11405:2015, ver (Figuras 8 A-B) **(ANEXO 2)**.

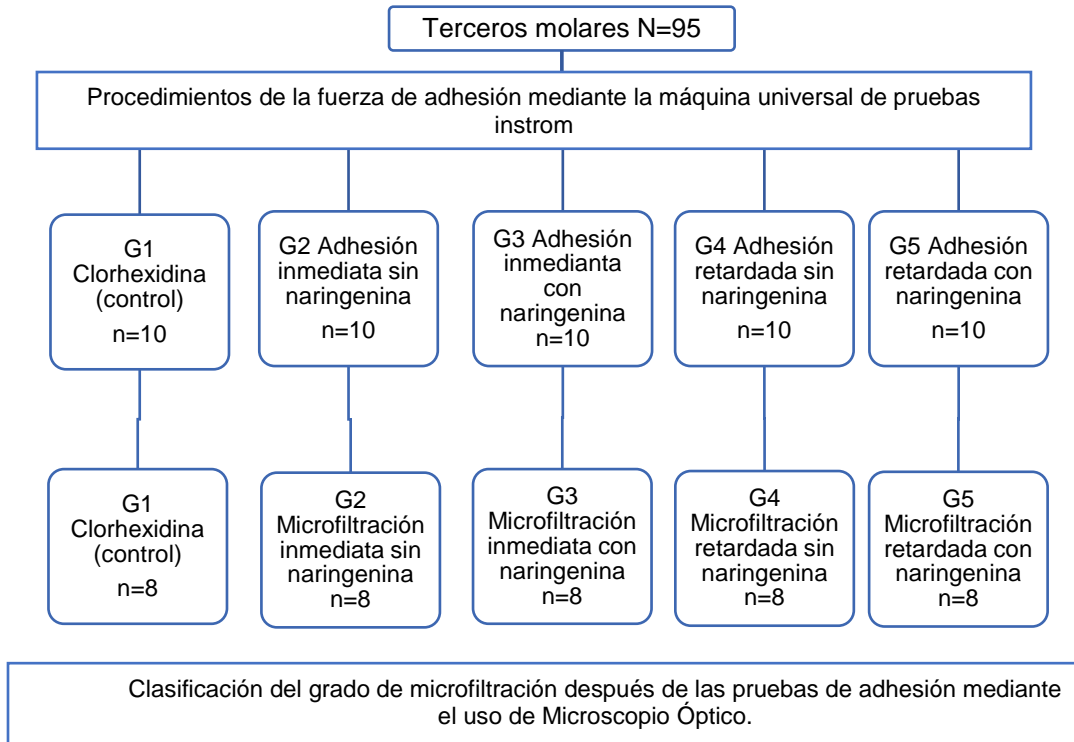


Fuente propia

Figura 8. Montaje de las muestras en la la maquina de termociclado. A) Canastilla de contencion donde se colocaron las muestras para el envejecimiento. B) Panel electrónico que muestra las temperaturas de las tinas con agua.

Finalmente, los datos fueron recolectados en una hoja de Excel y fueron llevados al programa SPSS versión 21, para la obtención de los resultados **(ANEXO 3)**.

## 8.8 Diagrama de flujo



## **8.9 Análisis estadístico**

Los datos se analizaron en el paquete estadístico, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 21 para Windows Statistical (IBM, New York, USA). Estadística descriptiva (media y desviación estándar) de los datos cuantitativos, porcentajes para la variable ordinal, estadística inferencial ANOVA de un factor.

## **9. ASPECTOS ÉTICOS**

Esta investigación se realizó conforme a:

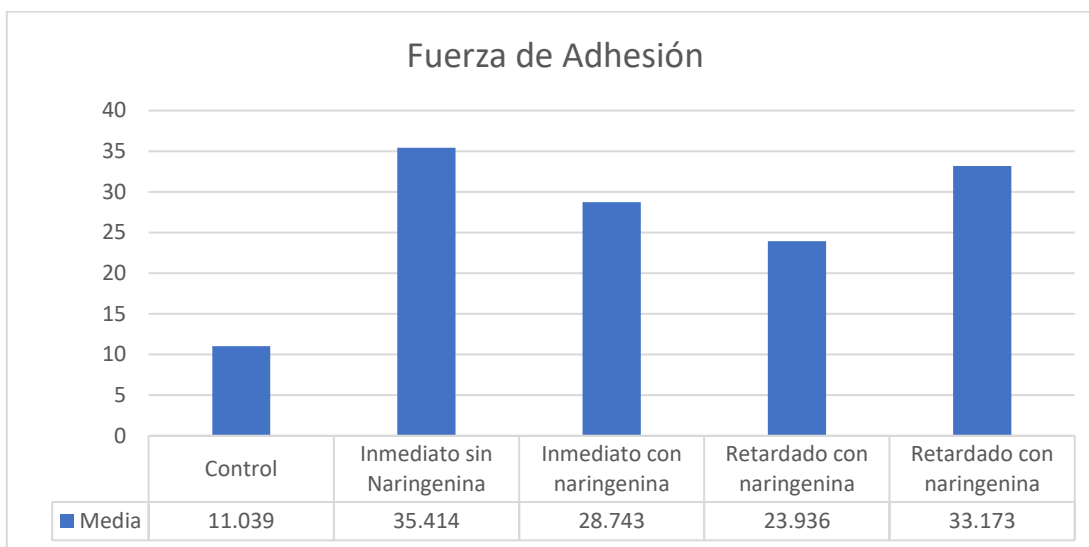
- La Ley General de Salud de acuerdo con el artículo 13.
- ISO /TS 11405- 2015 Odontología - Pruebas de adhesión y microfiltración a la estructura dental.
- Norma Oficial Mexicana NOM-087- ECOL- SSA1-2002.

**10.RESULTADOS**

Se analizaron 50 muestras para la experimentación de la fuerza de adhesión divididas en 5 grupos: grupo de clorhexidina (control) n=10, grupo sin naringenina inmediato n=10, grupo con naringenina inmediato n=10, grupo sin naringenina retardado n=10, grupo con naringenina retardado n=10. Para determinar la distribución de los datos, fue necesario aplicar la prueba de shapiro-wilk en todos los grupos lo cual se observó que presentaban una distribución normal ( $p>0.05$ ).

En los resultados de la fuerza de adhesión representados por el valor promedio en newtons, se observó que todos los grupos presentan valores superiores al grupo control, destacando el grupo inmediato sin naringenina y retardado con naringenina, ver (Figura 9).

Figura 9. Fuerza de adhesión. Comparación de los valores de la media en la fuerza de adhesión entre el grupo control y grupos experimentales de manera inmediata y después de su envejecimiento.



Fuente Propia

Se realizó la prueba de ANOVA de un factor para determinar la diferencia significativa entre los grupos experimentales contra el grupo control ( $p=0.0007$ ). Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis científica, ver (Cuadro 1)

**Cuadro 1. Comparación del grupo control vs grupos experimentales**

<b>Grupo</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>p valor</b>
Control	11.06	9.81	0.0007
Inmediato sin nangerina	35.41	19.57	
Inmediato con nangerina	28.74	14.02	
Retardado sin nangerina	23.93	8.25	
Retardado con nangerina	33.17	7.44	

Fuente Propia DE: desviación estándar.

Se observó una diferencia estadísticamente significativa con respecto al uso de la nangerina y la fuerza de adhesión de los grupos experimentales contra el grupo control ( $p=0.0003$ ), ver (Cuadro 2)

**Cuadro 2. Comparación de los grupos inmediatos**

Análisis comparativo de fuerza de adhesión, grupo inmediato sin y con nangerina			
sin Nangerina	35.41	19.57	0.00003
con Nangerina	28.74	14.02	

Fuente: t de student grupos independientes

Al envejecer la muestra se observó una disminución en la fuerza de adhesión, siendo esta, estadísticamente significativa ( $p=0.0034$ ), ver (Cuadro 3) .

**Cuadro 3. Comparación de los grupos con nangerina inmediato versus retardado**



Análisis comparativo de fuerza de adhesión, grupo sin naringerina inmediato versus retardado			
inmediato	35.414	19.58	0.0034
retardado	23.936	8.26	

Fuente: t de student pareada

En contraste, se observó lo contrario en el grupo experimental con naringenina, en el cual, no fue estadísticamente significativo ( $p=0.25$ ), ver (Cuadro 4)

**Cuadro 4. Comparación de los grupos con naringena inmediato versus retardado**

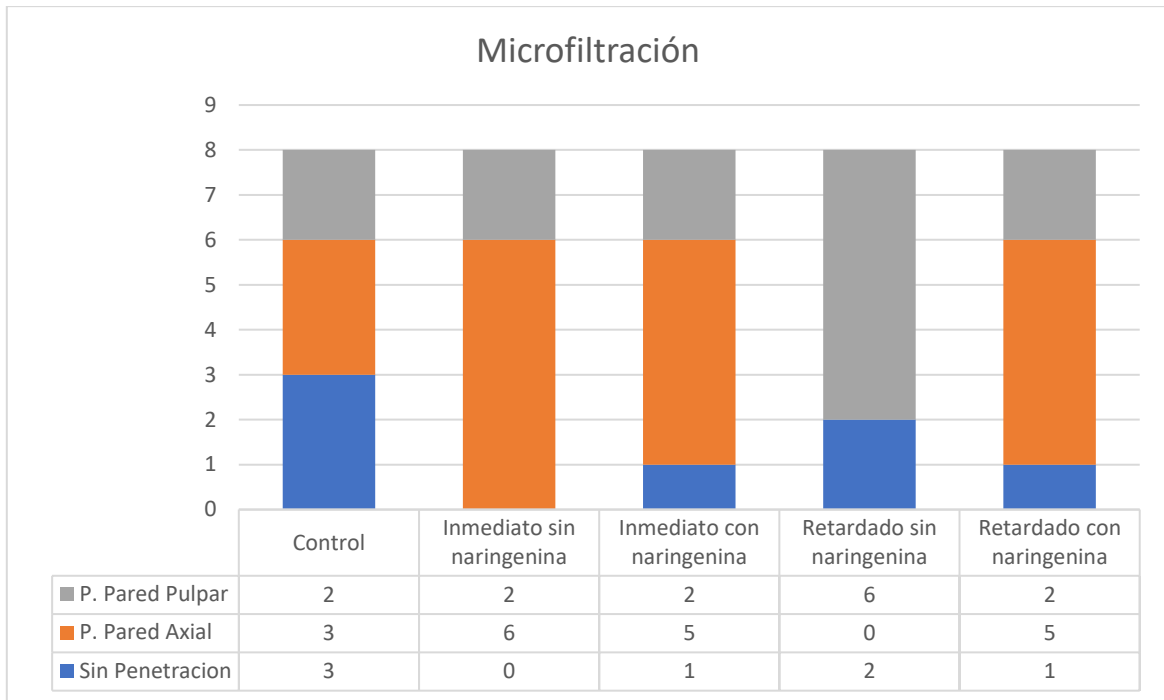
Análisis comparativo de fuerza de adhesión, grupo con naringerina inmediato versus retardado			
Inmediato	28.73	14.02	0.25
Retardado	23.93	8.26	

Fuente: t de student pareada

Para la experimentación de la microfiltración se analizaron 45 muestras divididas en sus respectivos 5 grupos ( $n=8$ ). Se pudo observar que el tipo de microfiltración más frecuente fue hasta la pared axial en la mayoría de los grupos. A excepción del grupo retardado sin naringenina en el que la penetración fue profunda en la mayoría de los casos, llegando hasta la pared pulpar de la cavidad.

En la comparación de los grupos experimentales sin naringenina, se pudo observar como la filtración siempre fue un factor a considerar, presentándose un grado de penetración hasta la pared axial y exacerbándose después del envejecimiento artificial. Lo contrario se observa en los grupos experimentales con naringenina, que presentaron una estabilidad en la escala de penetración del colorante, ver (Figura 10).

Figura 10. Análisis cualitativo del grado de microfiltración en las muestras.



## **11. DISCUSIÓN**

En este estudio se evaluó, de manera inmediata y retardada, la fuerza de adhesión de la resina al incorporar al protocolo adhesivo un inhibidor de metaloproteinasas (MMPs) y valorar su desempeño. Además, se observó el patrón de microfiltración de las muestras al ser sumergidas en una solución trazadora para determinar el modo más frecuente de filtración a nivel de una preparación para cavidad.

El desarrollo de la tecnología ha permitido indagar sobre las variables involucradas en un proceso tan delicado como la adhesión dental. Esto ha influenciado en la evolución de los materiales dentales para que estos sean cada vez más longevos y que requieran menos intervenciones para el mantenimiento de las restauraciones que han sido adheridas al sustrato dental. Dentro de los motivos por los cuales las restauraciones llegan a fallar es la degradación de la capa híbrida, la cual es la interfase entre el tejido dental y el material restaurador. Las MMPs son uno de los factores que se ha demostrado tiene injerencia en este proceso (30,57) Esto se ve reflejado a nivel experimental como microfiltración en la capa híbrida (58,59) y a largo plazo se traduce a un desalojo de la restauración o caries secundaria (8,28)

La inhibición de las MMPs ha sido investigada para contrarrestar estos fenómenos. La clorhexidina (CHX) surgió como uno de los principales compuestos capaces de inactivar a las MMPs e impedir la degradación del colágeno expuesto por el grabado ácido utilizado en los sistemas adhesivos de grabado y enjuague (34,40,60) No obstante, se ha reportado en algunos estudios que esta puede afectar el desempeño del adhesivo (61)

Es por eso que se han investigado alternativas para la CHX, dentro de las cuales los flavonoides surgieron como una opción viable (52,62,63) Rajeswari y cols., utilizaron flavonoides como inhibidores de MMPs (en este caso de EGCG y Catequina), observaron que al compararlo con el grupo control (CHX) estos eran capaces de aumentar los valores de la fuerza de adhesión y mantener estos después del envejecimiento artificial. Cabe resaltar que en diversos estudios se ha reportado al Optibond FL como el sistema adhesivo con mejores resultados, por lo

cual, a diferencia de esta investigación se decidió implementar el uso de este producto para poder homogeneizar los resultados (19,64) Rodríguez y cols., reportaron que no había diferencia significativa en los valores de fuerza de adhesión del grupo experimental (Naringenina) versus el grupo control (CHX). Sin embargo, mencionan que una de las limitaciones del estudio fue que no evaluaron los resultados después de un envejecimiento artificial, (65) por lo tanto la información se ve limitada.

En la presente investigación, se observaron diferencias significativas en todos los grupos experimentales (con o sin naringenina, inmediato o retardado) con respecto al grupo control (CHX). Datos que se contradicen con lo reportado por Rodríguez y cols. Cabe resaltar que sus resultados fueron interpretados en megapascales (Mpa) y en este estudio se expresaron los datos fueron expresados en Newtons (N). Sin embargo, al hacer la conversión de los resultados hacia Mpa y comparar las medias de los grupos control (3.03 MPa) y experimentales (inmediato sin naringenina = 9.72 MPa; inmediato con naringenina = 7.89 MPa; retardado sin naringenina = 6.57 MPa; retardado con naringenina = 9.10 MPa) se demuestra que la CHX interfiere en la fuerza de adhesión. Además, los valores de adhesión del grupo inmediato con naringenina y el retardado mejoraron después del envejecimiento artificial (7.89 MPa y 9.10 MPa, respectivamente), por lo que se lograron comprobar las hipótesis establecidas en esta investigación.

Por otra parte, el éxito de las restauraciones no solo conlleva el que se mantengan adheridas al sustrato, si no también en la calidad de la unión del material restaurador con el órgano dental. Por lo que fue necesario investigar sobre la microfiltración y sus patrones con respecto a una preparación cavitaria. La microfiltración es un fenómeno que se refiere a la penetración de fluidos, solutos y microorganismos a través de la interfaz entre el material restaurador y la estructura dentinaria o del esmalte. Esto se debe a una infiltración incompleta de monómeros de resina en las fibras de colágeno desmineralizadas expuestas por grabado ácido o adhesivos autograbantes, dando como resultado la inminente degradación de la capa híbrida. Si bien, la hidrólisis es el mecanismo principal por la cual esta se ve afectada,

existen otros factores que pudieran contribuir con el desarrollo de la microfiltración como lo son los cambios de temperatura que conllevan a la expansión y contracción de las resinas, fuerzas oclusales y/o la contracción por polimerización (51,66) Es por eso que resulta importante observar el cambio que ocurre después del envejecimiento artificial de las muestras. Ya que los materiales restauradores se encuentran en constante interacción con factores ambientales al estar en función. A comparación de la clorhexidina, la naringenina tiene un menor grado de disolución en agua, (67) lo que podría ser de utilidad debido a la constante interacción con el agua presente en la dentina, y de esta manera lograr contrarrestar la disociación del inhibidor de la capa híbrida.

En esta investigación, se observaron los patrones de microfiltración de manera inmediata y retardada al someterlas a una prueba de envejecimiento rápido, protocolo establecido por la norma ISO 11405:2015. En el grupo control, se observó que la microfiltración se comportó de manera equilibrada, siendo más común la no penetración y la penetración hasta la pared axial. En cuanto a los grupos experimentales inmediatos, se observó que el uso de la naringenina no presentó diferencia con respecto al grupo control, por lo tanto, su empleo no muestra relevancia con respecto al empleo de la clorhexidina.

Por otra parte, si se comparan los grupos experimentales en los que no se utilizó la naringenina, se observó una tendencia hacia la progresión de la microfiltración. Al contrario, si se comparan con aquellos grupos experimentales en los que sí fue empleada la naringena, se observó que los patrones de microfiltración se mantuvieron estables, por lo cual se logra comprobar la segunda hipótesis.

Finalmente, se presentaron ciertas limitaciones en el estudio, ya que las muestras no podían ser utilizadas en una segunda ocasión para repetir los procedimientos de adhesión o microfiltración, se optó por incrementar el número de muestras y separar de manera aleatoria cuales serían evaluadas de manera inmediata o retardada. Esto

conlleva a la asunción de que las muestras, el protocolo de adhesión y colocación de la resina son iguales.

Si bien los protocolos fueron todos estandarizados con base a la norma ISO 11405:2015, las muestras provenían de distintos individuos, con diferentes edades y morfología dental, lo que pudo influir en la proporción y distribución de los túbulos dentinarios.

**12. CONCLUSIÓN:**




- La naringenina no afecta la adhesión a dentina, sino que mejora los valores de adhesión.
- La naringenina mantiene los valores de adhesión después del envejecimiento artificial.
- La naringenina previene la progresión de la microfiltración al mantener íntegra la interfase diente/resina aún después del envejecimiento artificial.

**13. ALCANCES DEL ESTUDIO**

- Realizar pruebas de zimografía *in situ* para verificar la sustentividad de la naringenina en la capa híbrida después del envejecimiento.
- Realizar pruebas de caracterización para la integración de la naringenina al acondicionador de algún sistema adhesivo.
- Describir la capa híbrida tratada con naringenina para un mejor entendimiento en los mecanismos de adhesión.

## **14. ANEXOS**

**ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA DONACIÓN DE  
ÓRGANOS DENTARIOS.**

<b>CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE PARA LA DONACIÓN DE ÓRGANOS DENTARIOS</b>			
			
_____	Nombre(s)	Apellido paterno	Apellido materno
<p>Yo de forma voluntaria, de manera libre e informada consiento donar el (los) órgano(s) dentario(s).</p> <p>Autorizo que las muestras donadas sean utilizadas en el proyecto de investigación “Comparación en la microfiltración inmediata y retardada del sistema adhesivo autograbante en dentina acondicionada con y sin naringenina” en el posgrado de Rehabilitación Oral de la BUAP, contribuyendo con esto en la búsqueda de nueva información relevante. Declaro que no he percibido alguna retribución económica debido a la donación y es de mi conocimiento que las muestras no serán vendidas o distribuidas con fines de lucro. Se me ha hecho saber que mi identidad será guardada en estricta confidencialidad. Además, he sido informado(a) acerca del proyecto de investigación vigente en el podrían ser incluidas las muestras donadas, he comprendido toda la información del presente documento y he tenido la oportunidad de hacer preguntas y se me ha respondido satisfactoriamente todas las dudas acerca de éste.</p>			
Firma del paciente:		Ciudad	Fecha:
		:	
Testigos:			
Relación con el paciente: _____		Relación con el paciente:	_____
Nombre: _____		Nombre:	_____
Firma: _____		Firma:	_____
			_____

**ANEXO 2. ISO /TS 11405- 2015 ODONTOLOGÍA - PRUEBAS DE ADHESIÓN Y  
MICROFILTRACIÓN A LA ESTRUCTURA DENTAL.**

## **NORMA ISO 11405:2015**

La prueba de microfiltración es una manera de probar la eficacia del material o la combinación de materiales para establecer adhesión a esmalte y dentina.

### ***SUSTRATO DENTARIO***

Dientes permanentes humanos premolares o molares o incisivos mandibulares bovinos. Los bovinos donantes no deben tener las de 5 años. Si es posible, es preferible usar terceros molares permanentes de individuos de entre 16 y 40 años.

### ***TIEMPO DESPUÉS DE LA EXTRACCIÓN***

Debido a que los mayores cambios se producen en los primeros días o semanas iniciales después de la extracción, se deben utilizar los dientes un mes, pero no más de 6 meses después de la extracción ya que estos pueden sufrir cambios degenerativos en la proteína dentaria.

### ***ALMACENAMIENTO***

Inmediatamente después de la extracción debe limpiarse a fondo los dientes eliminando toda la sangre y tejido adherente. Los dientes deben colocarse en agua destilada de grado 3 de acuerdo con la norma ISO 3696:19987 o en solución bacteriostática/bactericida Cloramina T al 1.0% durante una semana como máximo y después almacenarse en agua destilada en un refrigerador a 4° C nominales. Para reducir el deterioro el medio de almacenamiento debe ser reemplazado al menos una vez cada dos meses.

### ***PREPARACIÓN DE LA CAVIDAD***

Acondicionar los dientes en agua destilada a 23+- 2 °C durante un mínimo de 12hrs antes de su uso. Debe utilizarse una cavidad estándar de 3mm de diámetro con una profundidad de al menos 1mm en la dentina en la parte media de la superficie bucal de un tercer molar, ángulo cavo superficial de aproximadamente 90°. Iniciar preparación de la cavidad en el esmalte con pieza de alta velocidad utilizando fresa pequeña cilíndrica de diamante. Acabar las paredes con una fresa de carburo de fisura recta, con extremo plano y sin cortes transversales de acuerdo con la norma **ISO 3823-1:1997** a aproximadamente 4000 rpm con abundante irrigación de agua. Para controlar el ángulo de la superficie durante la preparación el diente debe montarse en yeso piedra o en resina de curado en frío.

Una superficie estándar debe prepararse utilizando un papel abrasivo de carburo de silicio de grano P400 de acuerdo con la normal **ISO6344-1:1998**. El espécimen debe evaluarse con un aumento de 5x para asegurar que todo el margen de la cavidad este rodeado de dentina. **SE DEBE EXAMINAR UN MÍNIMO DE 10 CAVIDADES**

#### **ALMACENAMIENTO DE LOS ESPECIMENES**

Inmediatamente después de la colocación de la obturación, sumergir el espécimen en la solución elegida y almacenarlo a 37+- °C durante 24hrs. Si el efecto de termociclaje forma parte de la prueba iniciar el procedimiento de termociclaje después de 24hrs de almacenamiento. Después del termociclaje sumergir el diente en una solución trazadora durante 2-4 hrs.

**TERMOCICLAJE:** El termociclaje entre 5° y 55° C puede utilizarse como una prueba de envejecimiento acelerado. Los procedimientos recomendados son los siguientes:

**-PRUEBA TIPO 1:** prueba a corto plazo después de 24hrs en agua a 37°C.

**-PRUEBA TIPO 2:** prueba de termociclaje que comprende 500 ciclos en agua entre 5 y 55°C comenzando después de 20-24hrs de almacenamiento en agua a 37°C. La exposición a cada baño deber ser al menos 20s y el tiempo de transferencia entre baños es de 5-10s.

**-PRUEBA TIPO 3:** prueba a largo plazo después de 6 meses de almacenamiento en agua a 37°C (el medio se cambia cada 7 días para evitar la contaminación). Los

especímenes deben ser sometidos a prueba inmediatamente después de sacarlos del agua.

### ANEXO 3. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS POR GRUPO.

Fuerza de adhesión (N)					
	Control	Inmediato sin Naringenina	Inmediato con naringenina	Retardado con naringenina	Retardado con naringenina
1	0.81	34.64	33.43	34.23	31.28
2	1.08	10.61	2.69	18.8	45.64
3	1.62	41.21	53.56	30.74	30.07
4	1.62	16.11	28.19	14.9	31.15
5	6.72	35.04	39.2	37.05	27.52
6	14.9	29.27	31.68	22.15	30.88
7	16.78	37.99	21.88	19.33	35.98
8	18.8	70.47	14.64	29.8	34.23
9	21.48	63.09	37.32	17.32	20.68
10	26.58	15.71	24.84	15.04	44.3

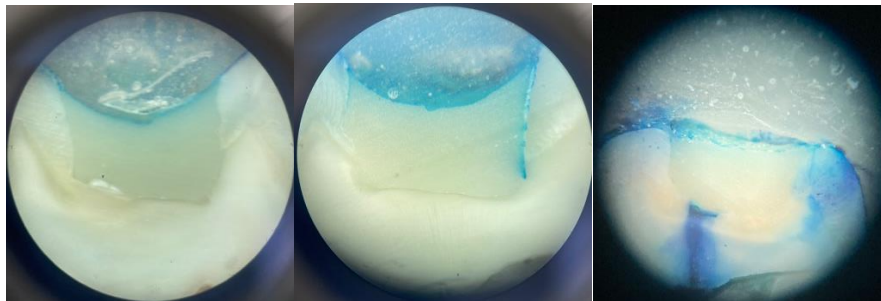
Microfiltración					
	Control	Inmediato sin Naringenina	Inmediato con naringenina	Retardado con naringenina	Retardado con naringenina
1	0	1	1	2	0
2	1	1	2	2	1
3	2	1	1	0	2
4	0	2	1	0	1
5	1	2	1	2	2
6	2	1	2	2	1
7	1	1	0	2	1

Microfiltración



	0	1	2
<b>Control</b>	3	3	2
<b>Inmediato sin Naringenina</b>	0	6	2
<b>Inmediato con naringenina</b>	1	5	2
<b>Retardado con naringenina</b>	2	0	6
<b>Retardado con naringenina</b>	1	5	2
<b>Total</b>	7	19	14

#### ANEXO 4. FOTOGRAFÍAS DEL MICROSCOPIO ÓPTICO



0 = Sin penetración

1 = Penetración  
hasta pared axial  
de la cavidad

2 = Penetración  
hasta pared pulpar  
de la cavidad

## **15. BIBLIOGRAFIA**

1. Breunig TM, Balooch M, Marshall GW, Habelitz S, Marshall SJ. AFM-Based Nanomechanical Properties and Storage of Dentin and Enamel. *MRS Proceedings*. 2011;676(Figure 1):3–7.
2. Bedran-Russo A, Leme-Kraus AA, Vidal CMP, Teixeira EC. An Overview of Dental Adhesive Systems and the Dynamic Tooth–Adhesive Interface. Vol. 61, *Dental Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2017. p. 713–31.
3. Zhang S chuan, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. Vol. 1, *International journal of oral science*. 2009. p. 163–76.
4. Mazzoni A, Scaffa P, Carrilho M, Breschi L. Effects of Etch-and-Rinse and Self-etch Adhesives on Dentin MMP-2 and MMP-9. 2013;5–10.
5. Vandeputte OM, Kiendrebeogo M, Rasamiravaka T, Stévigny C, Duez P, Rajaonson S, et al. The flavanone naringenin reduces the production of quorum sensing-controlled virulence factors in pseudomonas aeruginosa PAO1. *Microbiology (N Y)*. 2011 Jul;157(7):2120–32.
6. Truchado P, Giménez-Bastida JA, Larrosa M, Castro-Ibáñez I, Espín JC, Tomás-Barberán FA, et al. Inhibition of quorum sensing (QS) in yersinia enterocolitica by an Orange extract rich in glycosylated flavanones. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012. p. 8885–94.
7. Breschi L, Maravic T, Cunha SR, Comba A, Cadenaro M, Tjäderhane L, et al. Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. Vol. 34, *Dental Materials*. Elsevier Inc.; 2018. p. 78–96.
8. Indd S. Noncarious Cervical Lesions and Cervical Dentin Hypersensitivity: Etiologic Factors and Treatment Protocols.
9. Arola DD, Gao S, Zhang H, Masri R. The Tooth: Its Structure and Properties. Vol. 61, *Dental Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2017. p. 651–68.
10. Marshall GW, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. Vol. 25, *Journal of Dentistry*. 1997.
11. Flury S. Principios de la adhesión y de la técnica adhesiva Higienistas auxiliares. *Quintessence*. 2012;25(10):595–600.
12. Sperber GH, Buonocore MG. Effect of Different Acids on Character of Demineralization of Enamel Surfaces.
13. Henostroza G. Adhesión en Odontología Restauradora.pdf. 2003.
14. Anusavice K, Shen C, Rawls HR. *Phillips Science of Dental Materials*. 2012.
15. Bona A, Fávoro L. Bonding efficiency and durability : current possibilities. 2017;31:3–22.
16. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Van Landuyt K, Yoshida Y, Peumans M. From Buonocore’s Pioneering Acid-Etch Technique to Self-Adhering Restoratives. A Status Perspective of Rapidly Advancing Dental Adhesive Technology. *J Adhes Dent [Internet]*. 2020;22(1):7–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32030373>
17. Matos AB, Trevelin LT, da Silva BTF, Francisconi-Dos-Rios LF, Siriani LK, Cardoso MV. Bonding efficiency and durability: Current possibilities. Vol. 31, *Brazilian Oral Research*. Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia; 2017. p. 3–22.
18. Garrofé A, Martucci D, Picca M. Adhesión a tejidos dentarios. Vol. 29, *Rev. Fac. de Odon. UBA · Año*. 2014.

19. 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. *Dental Materials*. 2005;21(9):864–81.
20. De Munck J, Mine A, Poitevin A, Van Ende A, Cardoso MV, Van Landuyt KL, et al. Meta-analytical review of parameters involved in dentin bonding. Vol. 91, *Journal of Dental Research*. 2012. p. 351–7.
21. Betancourt DE, Baldion PA, Castellanos JE. Resin-dentin bonding interface: Mechanisms of degradation and strategies for stabilization of the hybrid layer. Vol. 2019, *International Journal of Biomaterials*. Hindawi Limited; 2019.
22. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates.
23. Dentin as a bonding substrate.
24. 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. Vol. 28, *Biomaterials*. 2007. p. 3757–85.
25. Perdigão J, Araujo E, Ramos RQ, Gomes G, Pizzolotto L. Adhesive dentistry: Current concepts and clinical considerations. Vol. 33, *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. Blackwell Publishing Ltd; 2021. p. 51–68.
26. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface. Vol. 24, *Dental Materials*. 2008. p. 90–101.
27. Özcan M, Dündar M, Erhan Çömlekoğlu M. Adhesion concepts in dentistry: Tooth and material aspects. Vol. 26, *Journal of Adhesion Science and Technology*. Taylor and Francis Ltd.; 2012. p. 2661–81.
28. Koshiro K, Inoue S, Tanaka T, Koase K, Fujita M, Hashimoto M, et al. In vivo degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system. Vol. 112, *Eur J Oral Sci*. 2004.
29. Anchieta RB, Oliveira FG, Sundfeld RH, Rahal V, Machado LS, Alexandre RS, et al. Analysis of hybrid layer thickness, resin tag length and their correlation with microtensile bond strength using a total etch adhesive to intact dentin. Vol. 24, *Acta Odontol. Latinoam*. 2011.
30. Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, et al. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. Vol. 94, *Journal of Dental Research*. SAGE Publications Inc.; 2015. p. 241–51.
31. Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin adhesion and MMPs: A comprehensive review. Vol. 25, *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2013. p. 219–41.
32. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*. 2004;83(3):216–21.
33. Mazzoni A, Scaffa P, Carrilho M, Tjäderhane L, Di Lenarda R, Polimeni A, et al. Effects of etch-and-rinse and self-etch adhesives on dentin MMP-2 and MMP-9. *J Dent Res*. 2013 Jan;92(1):82–6.
34. Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Hoshika T, Carrilho M, Breschi L, Tjäderhane L, et al. The requirement of zinc and calcium ions for functional MMP activity in demineralized dentin matrices. *Dental Materials*. 2010 Nov;26(11):1059–67.
35. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. Vol. 85, *Journal of Dental Research*. 2006. p. 22–32.

36. Femiano F, Femiano R, Femiano L, Jamilian A, Rullo R, Perillo L. Dentin caries progression and the role of metalloproteinases : an update. 2016;243–7.
37. Hashimoto M, Hirose N, Kitagawa H, Yamaguchi S, Imazato S. Improving the durability of resin-dentin bonds with an antibacterial monomer mdpb. *Dent Mater J*. 2018;37(4):620–7.
38. Biochemical Stability and Interactions of Dental Resin Composites and Adhesives with Host and Bacteria in the Oral Cavity: A Review J.
39. Zheng P, Zaruba M, Attin T, Wiegand A. Effect of different matrix metalloproteinase inhibitors on microtensile bond strength of an etch-and-rinse and a self-etching adhesive to dentin. *Oper Dent*. 2015 Jan 1;40(1):80–6.
40. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res*. 2005 Aug;84(8):741–6.
41. Bona A, Fávoro L. Bonding efficiency and durability : current possibilities. 2017;31:3–22.
42. Anagnostopoulou MA, Kefalas P. Bioflavonoid profile of citrus juices from Greece. *Biomedical Chromatography*. 2012;26(10):1252–68.
43. Sankari SL, Babu NA, Rani V, Priyadharsini C, Masthan KMK. Flavonoids – Clinical effects and applications in dentistry : A review. 2014;6(July):26–30.
44. Joshi R, Kulkarni YA, Wairkar S. Pharmacokinetic, pharmacodynamic and formulations aspects of Naringenin: An update. Vol. 215, *Life Sciences*. Elsevier Inc.; 2018. p. 43–56.
45. Liu Z, Li F, Zhang L, Yu H, Yu F, Chen J. Archives of Oral Biology The effect of active components from citrus fruits on dentin MMPs. *Arch Oral Biol*. 2017;83(July):111–7.
46. Epasinghe DJ, Yiu CKY, Burrow MF, Tsoi JKH, Tay FR. ScienceDirect Effect of flavonoids on the mechanical properties of demineralised dentine. *J Dent*. 2014;42(9):1178–84.
47. Bharti S, Rani N, Krishnamurthy B, Arya DS, Delhi N. Preclinical Evidence for the Pharmacological Actions of Naringin : A Review. 2014;437–51.
48. Yue J, Yang H. Influence of naringenin on the biofilm formation of *Streptococcus mutans*. 2018;76(April):24–31.
49. Sano H. Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation of resin-dentin bonds. Vol. 85, *Journal of Dental Research*. 2006. p. 11–4.
50. Gupta A, Tavane P, Gupta PK, Tejolatha B, Lakhani AA, Tiwari R, et al. Evaluation of microleakage with total etch, self etch and universal adhesive systems in class V restorations: An in vitro study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2017 Apr 1;11(4):ZC53–6.
51. Piemjai M, Watanabe A, Iwasaki Y, Nakabayashi N. Effect of remaining demineralised dentine on dental microleakage accessed by a dye penetration: How to inhibit microleakage? *J Dent*. 2004 Aug;32(6):495–501.
52. Sahadi BO, André CB, Sebold M, Giannini M. Effect of flavonoid-based experimental primers on dentin microtensile bond strength and interface morphology. *Int J Adhes Adhes*. 2023 May 1;124.
53. Wang R, Stanley T, Yao X, Liu H, Wang Y. Collagen stabilization by natural cross-linkers: A qualitative and quantitative FTIR study on ultra-thin dentin collagen model. *Dent Mater J*. 2022;41(3):440–50.

54. Wang Y, Green A, Yao X, Liu H, Nisar S, Gorski JP, et al. Cranberry juice extract rapidly protects demineralized dentin against digestion and inhibits its gelatinolytic activity. *Materials*. 2021 Jul 1;14(13).
55. Liu Z, Li F, Zhang L, Yu H, Yu F, Chen J. The effect of active components from citrus fruits on dentin MMPs. *Arch Oral Biol*. 2017 Nov 1;83:111–7.
56. Liu Y, Chen M, Yao X, Xu C, Zhang Y, Wang Y. Enhancement in dentin collagen's biological stability after proanthocyanidins treatment in clinically relevant time periods. *Dental Materials*. 2013 Apr;29(4):485–92.
57. De Munck J, Van Den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, et al. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *J Dent Res*. 2009 Dec;88(12):1101–6.
58. Zhang S chuan, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. Vol. 1, *International journal of oral science*. 2009. p. 163–76.
59. Nakahayashi N, Nakamura M', Nohoroir Y. Hybrid Layer as a Dentin-Bonding Mechanism.
60. Hiraishi N, Yiu CKY, King NM, Tay FR. Effect of chlorhexidine incorporation into a self-etching primer on dentine bond strength of a luting cement. *J Dent*. 2010;38(6):496–502.
61. Liu Y, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, et al. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. Vol. 90, *Journal of Dental Research*. 2011. p. 953–68.
62. Leena Sankari S, Aravindha Babu N, Rani V, Priyadharsini C, Masthan KMK. Flavonoids-Clinical effects and applications in dentistry: A review. Vol. 6, *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. Medknow Publications; 2014.
63. Epasinghe DJ, Yiu CKY, Burrow MF, Tsoi JKH, Tay FR. Effect of flavonoids on the mechanical properties of demineralised dentine. *J Dent*. 2014;42(9):1178–84.
64. Kalaiselvam R, Ganesh A, Rajan M, Kandaswamy D. Evaluation of bioflavonoids on the immediate and delayed microtensile bond strength of self-etch and total-etch adhesive systems to sound dentin. *Indian Journal of Dental Research*. 2018 Mar 1;29(2):133–6.
65. Rodriguez Cervantes BG. Efecto de la naringenina sobre la fuerza de adhesión en un sistema adhesivo de grabado y enjuague. 2023.
66. Kidd EAM. Microleakage : a review.
67. Bhia M, Motallebi M, Abadi B, Zarepour A, Pereira-Silva M, Saremnejad F, et al. Naringenin nano-delivery systems and their therapeutic applications. Vol. 13, *Pharmaceutics*. MDPI AG; 2021. p. 1–29.